

UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE
Facultad de Ciencias Experimentales
Departamento de Fisiología, Anatomía y Biología Celular



Caracterización de las alteraciones del sueño en personas mayores con deterioro cognitivo leve

Tesis Doctoral

presentada por

Eva María Hita Yáñez

Dirigida por

Dr. José Luis Cantero Lorente

Dra. Mercedes Atienza Ruiz

Sevilla, 2013



Los abajo firmantes, el Dr. José Luis Cantero Lorente y la Dra. Mercedes Atienza Ruiz, Profesores Titulares del Área de Fisiología de la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla, en calidad de directores de la Tesis Doctoral realizada por Dña. Eva María Hita Yáñez, que lleva por título “*Caracterización de las alteraciones del sueño en personas mayores con deterioro cognitivo leve*”, para optar al grado de Doctor por la Universidad Pablo de Olavide dentro del Programa Oficial de Postgrado en Neurociencias del Departamento de Fisiología, Anatomía y Biología Celular, hacen constar que el presente trabajo de Tesis es apto para su depósito, posterior lectura y defensa pública en la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

Sevilla, Noviembre de 2013

Fdo.: Dr. José Luis Cantero Lorente
Director de la Tesis

Fdo.: Dra. Mercedes Atienza Ruiz
Directora de la Tesis

Fdo.: Eva María Hita Yáñez
Autora de la Tesis

A mis padres, a Damián, y a Paco

Por subir siempre a mi tren.

Agradecimientos

Ha llegado el momento de ejercitar la memoria. Recordar con gran cariño y añoranza el camino recorrido hasta llegar hasta aquí, buscando un único objetivo, cuyo desarrollo detallaré en las siguientes páginas. Es muy emotivo sentarme a pensar en ello.

Nunca podemos considerarnos los únicos responsables de lo que conseguimos en la vida. En este caso no es diferente. Por ello, tras el largo camino recorrido hasta hoy me gustaría agradecer el apoyo de todas las personas que de una u otra manera me han acompañado o se han cruzado en mi camino y, por lo tanto, han formado parte de mi vida durante este tiempo.

En primer lugar, me gustaría expresar una gratitud especial e infinita a mis inmejorables directores de Tesis. Es difícil encontrar palabras de agradecimiento ante todo lo que me han aportado en este camino. Al Dr. José Luis Cantero Lorente porque sin sus aportes y dedicación, este trabajo no hubiera sido posible. A él tengo mil cosas que agradecer. Entre ellas quisiera destacar algunas como su apoyo y ánimos constantes ante cualquier situación, así como su confianza en mí desde un principio y su preocupación por mis intereses en todo momento. Durante estos años me ha hecho creer en la existencia de grandes científicos. Agradezco enormemente su inagotable esfuerzo, entusiasmo y dedicación día a día, así como sus constantes aportes a mi persona. Entre mil cosas que hacer cada día, siempre me ha permitido robar parte de su tiempo, siendo bienvenida en todo momento. Se ha convertido en el asesor de cada uno de mis pasos en el ámbito profesional tanto dentro como fuera del laboratorio, regalándome siempre buenos consejos. Agradezco enormemente su paciencia y generosidad. Sencillamente, ha sido un apoyo fundamental en el camino. Especialmente, gracias por contagiarme su ilusión y optimismo, fundamentales para seguir adelante en la carrera investigadora y ayudarme a descubrir cuánto me motiva.

A mi directora de Tesis, la Dra. Mercedes Atienza Ruiz, por ser una acompañante excelente en la consecución de este objetivo. Me siento afortunada por haberla conocido, tanto en el ámbito profesional como en el personal. Agradezco su cercanía y calidez durante mi estancia en el laboratorio, sus consejos, cariño y constantes palabras de ánimo, así como su valiosa contribución a este trabajo. Siempre ha demostrado confianza en mí, tornando insignificantes mis mayores incertidumbres. He aprendido mucho de ella, especialmente que un trabajo riguroso está compuesto de muchas pequeñas cosas y en cada una de ellas se debe buscar la perfección. Ambos se han convertido para mí en un ejemplo a seguir, y por lo tanto, forman parte de mi persona y guiarán mi trabajo futuro. Me siento orgullosa de ello y ha sido un honor poder aprender de grandes profesionales y personas como ellos. Siento que me han aportado todo lo que un doctorando puede esperar de sus directores de Tesis. Sin ellos, nada de esto hubiera sido posible. Sólo espero haber cumplido vuestras expectativas y que siempre tengáis un grato recuerdo de mi paso por el laboratorio.

Quería hacer una mención especial a los que realmente han hecho posible este trabajo. A cada una de las personas que voluntariamente participaron en el estudio. Este agradecimiento es especialmente significativo para mí, ya que siento una debilidad especial hacia las personas mayores y entiendo que la participación en el estudio les supuso un gran esfuerzo, ya que tuvieron que abandonar sus aferradas rutinas diarias durante varios días para regalarme su granito de arena.

Al Dr. Gualberto Buela-Casal y la Dra. M^a Paz Bermúdez porque en los principios ellos me impulsaron a comenzar este camino.

Agradezco con una gran añoranza a mis colegas de viaje, muchos de los cuales ya han emprendido otros caminos y con quienes comparto los mejores recuerdos de estos años. Todo aprendizaje tiene una base elemental, y la mía debo agradecerla a Antonio Cárdenas. Especialmente, gracias a Maité: es una de las mejores personas que conozco. Además de haber sido una compañera ejemplar, su aportación a este trabajo ha sido grande. Siempre ha estado dispuesta a ayudar y colaborar a resolver cualquier tipo de problema. Con sus grandes habilidades me ha ayudado a ganar tiempo y a eliminar momentos de agobio. Sé que será una gran neurocientífica; a Gabriel y Kelly, por hacer más bonito el comienzo de este camino, y a Kelly por sus ánimos en todo momento; a Esther, Sara, Sofía y Claudia, por compartir almuerzos y enseñarme que todo se merece una buena sonrisa; a Olga, por acompañarme con algunos cafés y buenas conversaciones; a Rafa, mi más cercano compañero de trabajo: gracias por compartir conmigo buenos y malos momentos y escucharme siempre. He tenido la suerte de que algunos de ellos se han convertido en más que colegas de laboratorio. Fran y Pepa, gracias por vuestra preocupación y por estar siempre dispuestos a ayudar y escuchar; a Mayely, por contagiarme su dulzura y cariño diariamente y por haberse convertido en una gran amiga: me alegra que personas así formen parte de mi vida.

Gracias a todos y cada uno de mis amigos por haber disculpado mis ausencias y faltas de atención en tantos momentos y por vuestra preocupación por el desarrollo de esta Tesis. Gracias por formar parte de mi vida. Gracias a Ana, por hacerme sentir como en casa durante mis años en Sevilla. Gracias a colegas de trabajo posteriores: Ana, Carlos, Juanma, Nieves, Isa y Tasmania, por vuestras palabras de ánimo y seguir mi evolución ofreciendo ánimos y cualquier tipo de ayuda. He aprendido mucho de todos ellos. Especialmente a Tasmania, gracias por ser mi punto de referencia, ofreciendo siempre una respuesta adecuada llena de confianza y dulzura; cada conversación tiene un aprendizaje, sobre todo con ella. Gracias por estar siempre ahí.

Gracias infinitas y llenas de cariño a las personas más importantes de mi vida: Mi familia. Especialmente a mis padres, gracias por su apoyo incondicional, independientemente de todo; por haberme ofrecido todo y más en la vida. Gracias por inculcarme valores como la constancia, respeto, paciencia y la pasión por el trabajo que tan importantes me han resultado en este camino. Junto a mis padres, mis hermanas/os y cuñados, cómo no, gracias por estar siempre ahí, pendientes de mi evolución, interesados en mis avances y haciendo este trabajo vuestro, a pesar de no ser expertos en la materia. A todos, perdón por las quejas y malos momentos, y sin duda, gracias por los buenos momentos, que han sido muchos y espero que sigan siendo. Sé que la lectura de esta Tesis la considerareis también un premio para vosotros. Miles de millones de gracias a todos y cada uno de los pequeños de mi familia, porque aun sin saberlo, han sido mi fuente de vitalidad diaria y han convertido en sonrisas todos mis malos momentos. Sin duda, su compañía ha sido siempre mi mejor vía de escape. Algún día, cuando podáis entenderlo os lo agradeceré de nuevo.

Gracias a Paco, él ha sido el mayor “sufridor” durante este viaje. Ha padecido conmigo todos los buenos y malos momentos. Siempre ha mostrado el entusiasmo que en algunos momentos me ha faltado. Gracias por aguantar mis nervios aparentemente ocultos para otros y mis malos momentos, pero sobre todo, gracias por haberme acompañado en todo momento, haciendo el trabajo como tuyo y confiando en mí cada segundo; llenando de cariño y tranquilidad este final, que no deja de ser un principio.

Muchas gracias a todos

*Hay que haber empezado a perder la memoria, aunque
sea solo a retazos, para darse cuenta de que esta
memoria es lo que constituye toda nuestra vida.*

Luis Buñuel

LISTA DE ABREVIATURAS

11C-PIB:	Pittsburgh Compound B
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
ADNmt:	Ácido desoxirribonucleico mitocondrial
ANCOVA:	Análisis de la covarianza
ApoE:	Gen de la apolipoproteína E
ARNm:	Ácido ribonucleico mensajero
Aβ:	Beta-amiloide (siglas en inglés, <i>Amyloid-Beta</i>)
CDR:	Clasificación clínica de demencia (siglas en inglés, <i>Clinical Dementia Rating</i>)
DCL:	Deterioro cognitivo leve
DCLa:	Deterioro cognitivo leve de tipo amnésico
DTI:	Imagen por tensor de difusión (siglas en inglés, <i>Diffusion Tensor Imaging</i>)
ε4-:	No portador del genotipo ApoE ε4
ε4+:	Portador del genotipo ApoE ε4
EA:	Enfermedad de Alzheimer
EEG:	Electroencefalografía
EMG:	Electromiografía
EOG:	Electrooculografía
ERO:	Especies reactivas de oxígeno
ESS:	Escala de somnolencia de Epworth (siglas en inglés, <i>Epworth Sleepiness Scale</i>)
GDS:	Escala de deterioro global (siglas en inglés, <i>Global Deterioration Scale</i>)
IA:	Índice de arousal
LCE:	Líquido cerebroespinal
LTM:	Lóbulo temporal medial
MMSE:	Examen del estado mental (siglas en inglés, <i>Mini-Mental State Examination</i>)
NPVL:	Núcleo preóptico ventrolateral
NREM:	Fases del sueño no REM (siglas en inglés, <i>Non-Rapid Eye Movements</i>)
NSQ:	Núcleo supraquiasmático
ONF:	Ovillos neurofibrilares
PSG:	Polisomnografía
REM:	Sueño de movimientos oculares rápidos (siglas en inglés, <i>Rapid Eye Movements</i>)
RM:	Resonancia magnética
SOL:	Sueño de ondas lentas
TTS:	Tiempo total de sueño
VIS:	Vigilia intra-sueño

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura demográfica de la población europea entre 1990 y 2060.	8
Figura 2.	Evolución de la pirámide poblacional en España y sus previsiones futuras.	9
Figura 3.	Evolución ontogenética de la arquitectura del sueño humano.	26
Figura 4.	Evolución clínica de los diferentes subtipos de DCL.	33
Figura 5.	Montaje de electrodos utilizado en el registro de PSG.	59
Figura 6.	Protocolo de registro PSG.	60
Figura 7.	Cambios significativos en la estructura y fragmentación del sueño en los diferentes grupos utilizados en el estudio.	72
Figura 8.	Gráficas de regresión que muestran las relaciones entre la densidad de arousals en SOL y la frecuencia de despertares o la dificultad para dormirse después de un despertar.	74
Figura 9.	Gráfica de regresión que muestra las relaciones entre el porcentaje de fase REM y las puntuaciones en la prueba de memoria inmediata en los casos con DCL $\varepsilon 4^-$ y DCL $\varepsilon 4^+$.	75
Figura 10.	Diferencias entre controles e individuos con DCL en cuanto a la estimación objetiva (PSG) y subjetiva de la latencia de sueño y el tiempo total de sueño.	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Cuestionario de sueño.	61
Tabla 2.	Perfil demográfico y cognitivo de la muestra del estudio.	70
Tabla 3.	Descriptores de la arquitectura del sueño.	71
Tabla 4.	Calidad subjetiva del sueño.	73

ÍNDICE GENERAL

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1. Envejecimiento de la población y Estado de Bienestar	5
2.2. Teorías explicativas del envejecimiento	11
2.2.1. <i>Teorías evolutivas</i>	12
2.2.2. <i>Teorías moleculares</i>	13
2.2.3. <i>Teorías celulares</i>	14
2.2.4. <i>Teorías sistémicas</i>	16
2.3. Envejecimiento fisiológico	17
2.3.1. <i>Alteraciones de la morfología neuronal y cambios en la anatomía cerebral</i>	17
2.3.2. <i>Alteraciones de la función cognitiva</i>	20
2.3.2.1. Memoria	20
2.3.2.2. Lenguaje	22
2.3.2.3. Atención y función ejecutiva	24
2.3.3. <i>Alteraciones del ciclo vigilia-sueño</i>	25
2.4. Envejecimiento fisiológico	29
2.4.1. <i>Concepto de DCL</i>	30
2.4.2. <i>Alteraciones de la morfología neuronal y cambios en la anatomía cerebral</i>	35
2.4.3. <i>Alteraciones de la función cognitiva</i>	39
2.4.3.1. Memoria	40
2.4.3.2. Lenguaje	41
2.4.3.3. Atención y función ejecutiva	42
2.4.4. <i>Alteraciones del ciclo vigilia-sueño</i>	43
3. PLANTEAMIENTO, OBJETIVOS E HIPÓTESIS	47
3.1. Planteamiento	47
3.2. Objetivos	48
3.3. Hipótesis	49
3.3.1. <i>Hipótesis I</i>	49
3.3.2. <i>Hipótesis II</i>	50
3.3.3. <i>Hipótesis III</i>	51

4. MATERIALES Y MÉTODOS	53
4.1. Sujetos experimentales	55
4.2. Determinación de los polimorfismos genéticos del gen ApoE	57
4.3. Registros polisomnográficos	58
4.4. Evaluación subjetiva de la calidad del sueño	61
4.5. Clasificación de las fases del sueño	61
4.6. Descriptores de la estructura del sueño fisiológico	63
4.7. Análisis estadísticos	63
4.7.1. Variables demográficas y cognitivas	64
4.7.2. Estructura del sueño fisiológico	64
4.7.3. Calidad subjetiva del sueño	64
4.7.4. Relación entre la estructura del sueño fisiológico y la calidad subjetiva del sueño	65
4.7.5. Relación entre sueño (fisiológico y calidad subjetiva) y función cognitiva	65
4.7.6. Comparación entre estimación subjetiva del sueño y PSG	66
5. RESULTADOS	67
5.1. Variables demográficas y cognitivas	69
5.2. Estructura del sueño fisiológico	70
5.3. Calidad subjetiva del sueño	72
5.4. Relación entre la estructura del sueño fisiológico y la calidad subjetiva del sueño	73
5.5. Relación entre sueño (fisiológico y calidad subjetiva) y función cognitiva	75
5.6. Comparación entre estimación subjetiva del sueño y PSG	76
6. DISCUSIÓN	77
6.1. Neurodegeneración incipiente e integridad del sueño: aspectos neurofisiológicos y cognitivos	80
6.2. Neuropatología de la enfermedad de Alzheimer y alteraciones del sueño	87
6.3. Alteraciones del sueño, deterioro cognitivo y enfermedad de Alzheimer	91
6.4. Limitaciones del estudio	94

7. CONCLUSIONES	97
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
9. ANEXOS	125
9.1. Anexo I	127
9.2. Anexo II	137

1. RESUMEN

1. RESUMEN

El imparable envejecimiento de la población viene acompañado de un incremento de las enfermedades neurodegenerativas, siendo la enfermedad de Alzheimer (EA) la que presenta una mayor incidencia en la población. Estudios previos han mostrado que las lesiones cerebrales que caracterizan a esta enfermedad, conocidas como placas de beta-amiloide ($A\beta$) y ovillos neurofibrilares (ONF), aparecen décadas antes de que se produzca el diagnóstico, lo que justifica el estadio preclínico denominado deterioro cognitivo leve (DCL). Entre la sintomatología no cognitiva de la EA es frecuente encontrar alteraciones del sueño. Recientemente, se ha informado que estas alteraciones están relacionadas con la aparición de las primeras placas de $A\beta$ en ratones transgénicos APP-PS1. Inspirados por este conjunto de evidencias, el presente trabajo de Tesis trata de determinar si la estructura del sueño fisiológico y su calidad subjetiva sufren alteraciones en personas mayores con DCL de tipo amnésico (DCLa), y si estas alteraciones del sueño guardan relación con el deterioro de la memoria y/o con la presencia del alelo $\epsilon 4$ en el gen de la apolipoproteína E (ApoE), factor de riesgo genético más relevante en la EA. Además, examinamos si la calidad de sueño subjetiva es capaz de predecir cambios en la estructura del sueño fisiológico, y si los procesos que subyacen al envejecimiento normal y patológico interfieren con la percepción temporal del sueño.

Para realizar este estudio, seleccionamos a un grupo de 25 personas mayores sanas y 25 personas mayores con DCLa. A cada uno de los participantes se les realizó un estudio polisomnográfico (PSG) nocturno y se les evaluó la calidad subjetiva del sueño mediante un cuestionario de 5 preguntas centradas en las alteraciones del sueño más frecuentes en pacientes con EA y DCL.

Los resultados confirmaron que la arquitectura del sueño está alterada en personas mayores con DCLa, mostrando una mayor fragmentación del sueño de ondas lentas (SOL) y una duración más corta del sueño REM. Los individuos portadores del alelo $\epsilon 4$

de la ApoE (DCLa $\epsilon 4+$) presentaron una disminución más acentuada del sueño REM que los no portadores de este polimorfismo genético (DCLa $\epsilon 4-$). Paradójicamente, la reducción de sueño REM correlacionó con una peor ejecución en la tarea de memoria inmediata solo en los DCLa $\epsilon 4-$. Por otra parte, los controles sanos fueron capaces de predecir el grado de fragmentación del SOL a partir de valoraciones subjetivas, resultado que no se extendió a las personas mayores con DCLa. Finalmente, los individuos con DCLa mostraron una percepción alterada del sueño que quedó reflejada en la sobreestimación de la latencia al comienzo del sueño.

En conjunto, estos resultados demuestran que las personas en alto riesgo de desarrollar EA presentan más alteraciones del sueño que los sujetos mayores sanos, sugiriendo que la relación entre los niveles de A β y las alteraciones del sueño observadas en modelos animales de amiloidosis podría extenderse a los individuos con DCLa. Desde una perspectiva aplicada, estos resultados justificarían el desarrollo de estrategias terapéuticas orientadas a mejorar la calidad del sueño en el envejecimiento, lo cual, en último extremo, podría contribuir a ralentizar o detener parcialmente algunos de los factores que intervienen en la aparición de los agregados de A β que subyacen a la EA.

2. INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

A lo largo de este apartado, trataremos de situar el problema del envejecimiento en el contexto de las sociedades desarrolladas, destacando el impacto socioeconómico que tendrá este fenómeno sobre el Estado del Bienestar en las siguientes décadas. Por otra parte, describiremos el envejecimiento atendiendo a diversos marcos teóricos explicativos. Acto seguido, pasaremos a describir los correlatos cerebrales del continuo envejecimiento normal-EA. Y finalmente realizaremos una breve revisión sobre las características del sueño asociadas al envejecimiento normal y a la EA, destacando aquellos estudios centrados en las fases prodrómicas de esta patología neurodegenerativa.

2.1. Envejecimiento de la población y Estado del Bienestar

El concepto de Estado del Bienestar se refiere a un sistema de prestaciones que, por una parte, garantiza un nivel mínimo de ingresos a individuos y familias y, por otra, permite hacer frente a ciertas contingencias (enfermedad, envejecimiento o desempleo) que de otra forma conducen a crisis personales y familiares. En último extremo, este sistema asegura que todos los ciudadanos, con independencia de su situación económica y clase social, tengan acceso a los mejores servicios sociales de acuerdo con las posibilidades del sistema (Briggs, 1961). En relación con las personas mayores, el Estado del Bienestar hace referencia a una serie de servicios básicos como los sistemas de pensiones, atención a personas dependientes, servicios domiciliarios y asistencia sanitaria. Este conjunto de prestaciones son un verdadero indicador del bienestar económico de un país, así como de la calidad de vida de sus mayores.

El envejecimiento de la población mundial, especialmente de los países desarrollados, se ha convertido en un importante desafío para el mantenimiento del Estado del Bienestar. Las proyecciones futuras de la población para las siguientes décadas conducen de forma inevitable hacia una mayor inversión en pensiones durante períodos de tiempo más prolongados (Martínez-Noval & Sáenz de Jubera, 2009; Labeaga, 2008). Por otra parte, la ineludible relación entre envejecimiento y enfermedades crónicas apunta a que cada vez más personas mayores requerirán del cuidado y apoyo de sus familias así como del uso de recursos sanitarios externos (Pérez-Díaz, 2010). Todo ello acarreará un incremento considerable del gasto socio-sanitario que difícilmente vendrá acompañado de un aumento similar del número de afiliaciones a la Seguridad Social, lo que supondrá una seria amenaza a la sostenibilidad del Estado del Bienestar para las próximas décadas (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico, 1998).

La proporción de personas mayores de 60 años en el mundo ha pasado del 8% en 1950 al 11,2% en 2011, y se prevé que alcance el 22% en el año 2050 (Organización de las Naciones Unidas, 2011). El ritmo de crecimiento de esta población es mayor si se compara con la población global o con otros grupos de edad. Mientras que la población mundial incrementa a razón del 1,2% anual, la tasa de incremento anual de personas mayores asciende al 2,6% (Organización de las Naciones Unidas, 2009). Dentro de este sector de la población, el grupo de personas mayores de 80 años crece a un ritmo más acelerado que el resto. Así, nos encontramos que actualmente hay 1 persona de 80 años por cada 7 personas de 60, representando los mayores de 80 años al 1,6% de la población mundial. Las expectativas para 2050 serán de 1 persona mayor de 80 años por cada 5 mayores de 60, alcanzando el 4,3% de la población mundial (Organización de las Naciones Unidas, 2011; 2009). En resumen, tanto los datos demográficos actuales como las previsiones de la población para las siguientes décadas apuntan a un inevitable envejecimiento de la población mundial que incidirá muy especialmente sobre los grupos con edades más avanzadas.

El envejecimiento de la población no ha afectado de forma homogénea a todos los países desarrollados, variando las causas, magnitud y ritmo del fenómeno en cada nación. En la actualidad, una quinta parte de la población de países desarrollados supera la edad de 60 años, y se espera que esta proporción aumente en el año 2050 hasta alcanzar un tercio de la población. Sin embargo, sólo el 8% de la población total en países en vías de desarrollo está integrada por mayores de 60 años, a pesar de que las previsiones apuntan a que una quinta parte de la población pertenecerá a este grupo de edad en el año 2050. Por lo tanto, podríamos decir que el ritmo de envejecimiento será más acelerado en países en vías de desarrollo que en los países desarrollados y, consecuentemente, aquellos países dispondrán de menos tiempo para adaptarse a la nueva estructura demográfica (Organización de las Naciones Unidas, 2011).

Europa no es ajena al fenómeno del envejecimiento de la población. Según datos del Informe Eurostat (2011), los países de la Unión Europea pasarán de tener 84,6 millones de personas mayores de 65 años en el año 2008 a 151,5 millones en el año 2060, lo que supondrá un incremento sobre la población total del 17,1% al 30%. La mayor parte de este fenómeno se prevé que ocurra entre los años 2020 y 2040 (Eurostat, 2011). Dicho crecimiento será más acentuado en personas octogenarias, pasando de 21,8 millones en el año 2008 a 61,4 millones en el año 2060; siendo el aumento de dicho grupo de edad tres veces superior al producido en personas con edades comprendidas entre 60 y 80 años (Eurostat, 2011). La Figura 1 ilustra la evolución de la población y las previsiones demográficas en Europa entre 1990 y 2060.

Según el Tercer Informe sobre Demografía realizado por la Comisión Europea, Alemania posee actualmente la mayor proporción de mayores de 65 años (20,7%), seguida de Italia con un 20,2%; mientras que Irlanda, Eslovaquia y Chipre presentan las proporciones más bajas (Eurostat, 2011). Las predicciones a largo plazo (2008-2060) apuntan a que la edad media de la población aumentará en 15 años en países

como Polonia y Eslovaquia, contrastando con lo que ocurrirá en otros países como Francia, Suecia o Bélgica cuya media de edad no incrementará más de 5 años (Giannakouris, 2008). Alemania y España, que actualmente presentan un número elevado de personas mayores, mantendrán un ritmo sostenido de envejecimiento hasta 2040 (Eurostat, 2011).

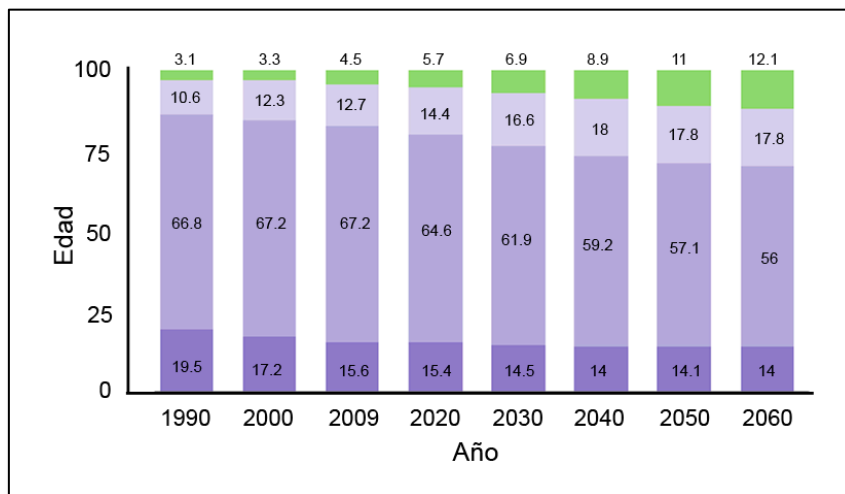


Figura 1. Estructura demográfica de la población europea entre 1990 y 2060 (Eurostat, 2011). Cada color refleja porcentajes de la población total para diferentes rangos de edad.

España es el cuarto país más envejecidos del planeta y se prevé que en el año 2050 ocupe una posición todavía más avanzada en este ranking (Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2010). Nuestro país envejecerá mucho más rápido que el resto de países europeos (Zaidi, 2008), hecho en parte debido al incremento de la esperanza de vida, que se encuentra entre las más elevadas de la Unión Europea (Eurostat, 2010). Según datos del Instituto Nacional de Estadística, la esperanza de vida de nuestro país en el 2049 alcanzará los 84,3 años en hombres y 89,9 años en mujeres (Instituto Nacional de Estadística, 2010), acentuándose estas diferencias de género a medida que envejecemos.

Actualmente, la proporción de personas mayores de 65 años en España asciende a 8 millones (17,4% de la población total) (Abellán-García & Ayala-García, 2012). Las previsiones apuntan a que estas cifras superarán el 30% de la población total en el año 2060, llegándose a los 13 millones, y alcanzándose una proporción de 1 de cada 4 ciudadanos con edades superiores a 65 años (Instituto Nacional de Estadística, 2010). Al igual que en el resto del mundo, el grupo de octogenarios sufrirá el crecimiento más acelerado en nuestro país. Actualmente, las personas mayores de 80 años representan el 5,3% de la población total (Abellán-García & Ayala-García, 2012) y el 30% de la población de personas mayores (Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2010). La Figura 2 refleja la evolución de la población española y sus previsiones de cara al futuro.

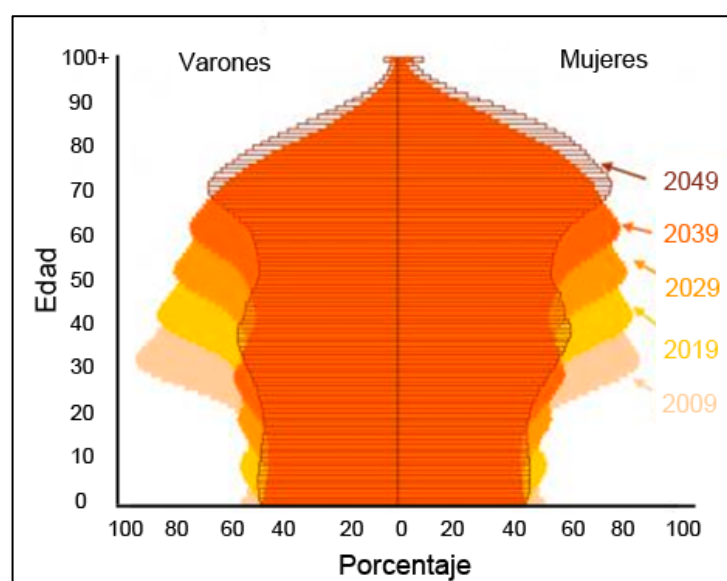


Figura 2. Evolución de la pirámide poblacional en España y sus previsiones futuras (INE, 2010).

Las Comunidades Autónomas de Andalucía, Cataluña y Madrid son las que poseen un mayor número de personas mayores en cifras absolutas. Sin embargo, en datos

relativos, las Comunidades Autónomas más envejecidas se localizan en el noroeste de la península. En este sentido, Castilla y León con un 22,9% de personas mayores de 64 años se sitúa a la cabeza; seguida del Principado de Asturias (22,5%) y Galicia (22,4%) (Abellán-García & Ayala-García, 2012; Instituto Nacional de Estadística, 2011). Sin duda, en los siguientes años asistiremos a planes de actuación sobre el envejecimiento que se aplicarán de forma escalonada en las diferentes Comunidades Autónomas de nuestro país.

La *Encuesta sobre Discapacidad, Autonomía personal y Situaciones de Dependencia* reveló que la tasa de dependencia económica, entendida como la necesidad de ayuda o asistencia importante para las actividades de la vida cotidiana (Consejo de Europa, 1998) de los españoles mayores de 64 años fue del 24,6% en 2009, con previsiones de alcanzar el 60,6% en el año 2049 (Instituto Nacional de Estadística, 2010). Tanto la población mayor de 60 años como las tasas de dependencia crecerán a un mayor ritmo en España que en el resto de países europeos, elevándose hasta un 89,6% en 2049. Consecuentemente, nuestro país se enfrentará, antes que otras naciones de Europa, a importantes retos económicos y socio-sanitarios derivados del envejecimiento de la población (Eurostat, 2008). En la esfera económica, este fenómeno tendrá un impacto relevante sobre el sistema de pensiones, el consumo y el ahorro familiar. Mientras que en el ámbito socio-sanitario afectará de forma determinante a la necesidades derivadas de la salud y a los servicios sociales asociados a la dependencia (Instituto Nacional de Estadística, 2010).

El envejecimiento es un fenómeno natural asociado con alteraciones morfológicas y funcionales del organismo, que a su vez incrementan el riesgo de padecer enfermedades crónicas de índole muy diversa. Nuestro conocimiento sobre la salud de la población mayor española proviene fundamentalmente de las Encuestas Nacionales de Salud que realiza periódicamente el Instituto Nacional de Estadística. Los resultados de estas encuestas coinciden habitualmente en que la salud de nuestros mayores es

buena o muy buena, aunque también revelan que las personas de edad más avanzada no responden de forma tan positiva, y que las mujeres responden de forma más negativa que los hombres a esta cuestión. Resulta especialmente complicado obtener datos fiables sobre la salud objetiva de nuestros mayores, dadas las limitaciones de los estudios epidemiológicos realizados hasta la fecha y los problemas metodológicos derivados de trabajar con grandes muestras. Por ejemplo, las pérdidas de audición, problemas dentales, dermatológicos y/o alteraciones del sueño son frecuentes en las personas de edad avanzada y, aunque interfieren con la calidad de vida del individuo, no suelen ser consideradas como patológicas sino como problemas asociados al propio envejecimiento (Libro Blanco sobre Envejecimiento Activo, 2011).

Dado que el envejecimiento es un fenómeno que se manifiesta en cada nivel de organización biológica del organismo, repasaremos a continuación las teorías más relevantes que han contribuido a explicar qué es el envejecimiento y cuáles son sus mecanismos más determinantes.

2.2. Teorías explicativas del envejecimiento

El envejecimiento del organismo conlleva profundas alteraciones en procesos biológicos elementales que afectan no solo a la morfología y química cerebral sino también a todos los procesos genéticos, moleculares y fisiológicos que mantienen la vida. El envejecimiento no resulta de procesos patológicos pero incrementa la vulnerabilidad a enfermedades crónicas, incidiendo negativamente sobre los mecanismos de respuesta de estrés celular que están en la base de la aparición de patologías muy diversas, que van desde el cáncer a las enfermedades neurodegenerativas (Kourtis & Tavernarakis, 2011).

Las causas del envejecimiento son extremadamente complejas, al tratarse de un fenómeno multifactorial que incide sobre procesos que operan a diferentes niveles de

organización biológica (Franceschi *et al.*, 2000). Podríamos agrupar las teorías que explican las causas del envejecimiento en aquellas que entienden el envejecimiento como un fenómeno biológico programado genéticamente, y aquellas otras que lo atribuyen a alteraciones moleculares causadas de forma accidental. A continuación, describiremos los pilares básicos sobre los que descansa cada una de estas teorías en función del nivel de análisis al que hacen referencia.

2.2.1. Teorías evolutivas

La *Teoría de la Evolución de Darwin* permitió a los científicos de la época comenzar a debatir sobre la finalidad del envejecimiento para la conservación de individuos y especies, así como a preguntarse por qué los mecanismos de adaptación se vuelven más imperfectos cuando el organismo envejece (Hughes & Reynolds, 2005). Un siglo después de que Darwin desarrollara su *Teoría sobre la evolución biológica* (Darwin, 1872), August Weismann postuló su *Teoría de la muerte programada*, en la que proponía que el envejecimiento progresa en el organismo del mismo modo que lo hace cualquier otra característica biológica (Weismann, 1882). Expuso la idea de que las células somáticas poseen un número de divisiones finitas y que, por tanto, el envejecimiento se deriva de la muerte celular provocada por la finalización del proceso de división celular. Esta teoría ha sido confirmada experimentalmente (Hayflick, 1980).

Aunque las teorías evolutivas iniciales contribuyeron de forma significativa a entender los procesos de envejecimiento, diversos estudios han demostrado que el envejecimiento evoluciona de forma diferente en cada individuo (Kirkwood & Austad, 2000). Por otro lado, si existiera un gen específico que activara de forma irreversible los mecanismos celulares del envejecimiento, cabría la posibilidad de que se produjeran mutaciones de este gen en algunos individuos, que no envejecerían. Aunque este mecanismo sería de enorme valor adaptativo, no existen evidencias de su existencia en especies concretas (Crespo-Santiago, 2006).

2.2.2. Teorías moleculares

En este apartado se agrupan fundamentalmente aquellas teorías que proponen que la longevidad de las especies está regulada por genes que interactúan con factores ambientales. Del resultado de esta interacción dependerá la capacidad de una especie para alargar su ciclo vital más allá del periodo útil de reproducción.

La Teoría de la regulación genética plantea que durante el envejecimiento se producen cambios en la expresión de algunos genes que determinan la longevidad del organismo (Kanungo, 1975; Von Hahn, 1966). Esta teoría viene avalada por estudios que han demostrado que la expresión génica varía con la edad (Weindruch et al., 2002) y que las mutaciones en determinados genes podría modificar la forma de envejecer en diferentes especies (Sampayo et al., 2003). Estudios realizados con personas centenarias han confirmado el papel que tiene el componente genético en la longevidad extrema (Perls et al., 2002; Puca et al., 2001).

La Teoría de la restricción de codones postula que la información contenida en el ARN mensajero (ARNm) se ve alterada como consecuencia del envejecimiento y, por lo tanto, el mensaje que se transcribe pierde fiabilidad. El fundamento básico de esta teoría es que el mensaje que contiene el ARNm es codificado por los codones y traducido por los ribosomas del citoplasma para la síntesis de proteínas. En este contexto, el envejecimiento provoca fallos en la transcripción del ácido desoxirribonucleico (ADN) que conducen a una alteración en la síntesis de proteínas, convirtiendo a la célula en disfuncional (Strehler et al., 1971). Diversos estudios han confirmado experimentalmente el aumento de este tipo de alteraciones en modelos animales durante el envejecimiento (Crespo-Santiago, 2006).

La Teoría del error-catástrofe propone que los errores eventuales originados en la síntesis de proteínas durante el envejecimiento suponen una alteración en el ADN y en otras biomoléculas (Orgel, 1963). Esta secuencia de errores conduce a una disfunción

celular incompatible con el mantenimiento de la vida, derivando finalmente en la muerte celular. Normalmente, los errores se producen en proteínas con disfunciones metabólicas que son sustituidas por otras proteínas ya alteradas (Kristal & Yu, 1992). Aunque, ciertamente, durante el envejecimiento se ha observado una mayor cantidad de proteínas alteradas, no ha quedado demostrada de forma fehaciente la relación directa entre el envejecimiento y los errores en la síntesis de proteínas (Levine & Stadtman, 1996), quedando esta teoría en entredicho.

Basándose en el incremento de anomalías cromosómicas en células envejecidas (Rattan, 1989), se desarrolló la Teoría de la mutación somática (Troen, 2003; Curtis, 1963). Esta teoría mantiene que el envejecimiento resulta de la acumulación de daños en el material genético de las células somáticas inducidos por causas externas al organismo. Este fenómeno conduciría a la generación de células anormales con alteraciones funcionales. Un aspecto importante de esta teoría es la capacidad celular para reparar los daños producidos en el ADN, determinando así las diferencias en longevidad de las diferentes especies (Hart & Setlow, 1974).

El envejecimiento se caracteriza por una disminución en la capacidad para eliminar sustancias de desecho del organismo, alterando el funcionamiento normal del individuo. Este razonamiento sirvió de base para sustentar la Teoría de la acumulación de desechos. Por ejemplo, se ha observado que la lipofuscina, desecho que se encuentra en el citoplasma, se acumula de forma proporcional al número de divisiones celulares. Sin embargo, queda por determinar si la acumulación de lipofuscina en el organismo juega un papel relevante en el envejecimiento o simplemente es una consecuencia del mismo (Stadtman, 1989).

2.2.3. Teorías celulares

Las teorías celulares se fundamentan en que el envejecimiento es una mera consecuencia de la muerte celular. Una de las teorías celulares más importantes para

explicar el envejecimiento es la *Teoría de los radicales libres*, propuesta inicialmente por Harman en 1956. Un radical libre es un átomo, molécula o parte de ésta, con existencia independiente, que posee uno o varios electrones no emparejados en su orbital más externo (Fridovich, 1978). Estos radicales libres parecen desempeñar un papel regulador en la expresión génica, reparación celular, diferenciación y apoptosis. Esta teoría postula que el envejecimiento resulta de los daños intracelulares producidos por los radicales libres durante la vida de la célula (Harman, 1956). Dado que la acción de los sistemas antioxidantes disminuye durante el envejecimiento (Viña *et al.*, 2007), al organismo le resulta imposible contrarrestar el ambiente oxidativo y, por lo tanto, se producen daños irreparables en sus tejidos. A pesar de que se ha encontrado una relación inversa entre longevidad y producción de radicales libres en algunos órganos de mamíferos (Sohal *et al.*, 1989), no existen evidencias experimentales que indiquen que un suplemento de antioxidantes desacelere el envejecimiento (Jayanthi *et al.*, 2010).

La mayoría de los radicales libres se generan a partir de especies reactivas de oxígeno (ERO) que se forman de manera natural durante el transporte mitocondrial y que juegan un importante papel en la señalización celular (Boveris & Chance, 1973). En momentos de estrés ambiental, los niveles de ERO incrementan significativamente, provocando importantes daños en las estructuras de la célula. Esto conduce a una situación conocida como estrés oxidativo. La *Teoría del estrés oxidativo y daño mitocondrial* postula que el envejecimiento es el resultado del daño producido en el ADN mitocondrial (ADNmt), causado por el aumento en la producción de ERO. Estos daños, a su vez, contribuyen al aumento del estrés oxidativo y finalmente conducen al envejecimiento (Viña *et al.*, 2007; Fleming *et al.*, 1982), fortaleciendo el mecanismo de retroalimentación que incrementa el daño oxidativo y, consecuentemente, la muerte celular (Hiona & Leeuwenburgh, 2008). Actualmente existen muchas evidencias experimentales que apoyan esta teoría. Por ejemplo, destaca el hecho que la producción de ERO incrementa en animales de más edad (Sohal *et al.*, 1990),

sugiriendo que el ritmo de producción de oxidantes por las mitocondrias juega un importante papel en el envejecimiento. Además, estudios realizados con animales transgénicos que acumulan deterioros en el ADNmt han mostrado que éstos envejecen de forma prematura (Trifunovic *et al.*, 2004).

La Teoría del envejecimiento celular, también denominada *Teoría de los telómeros*, ha vinculado envejecimiento celular con el acortamiento de los telómeros, estructuras situadas en los extremos de los cromosomas cuya función principal es la estabilización de la información genética (Blackburn, 2001). Watson (1972) fue el primero que propuso una asociación entre telómeros y envejecimiento en base a la replicabilidad finita de los fibroblastos. Posteriormente, Harley y colaboradores (1990) sugirieron que, dado que cada vez que la célula se divide se produce un acortamiento de los telómeros, cuando este acortamiento alcanza su límite, la célula deja de dividirse y es eliminada como mecanismo de protección de la integridad del genoma. Un aval importante para esta teoría procede del hecho de que la mayoría de las células de tejidos y órganos humanos muestran un acortamiento de los telómeros a medida que envejecen (Djojosebroto *et al.*, 2003).

2.2.4. Teorías sistémicas

Estas teorías relacionan el proceso de envejecimiento con disfunciones en los órganos y sistemas que regulan y controlan otros sistemas, como es el caso de los sistemas nervioso, endocrino e inmunológico. Dos de las teorías sistémicas más importantes hacen referencia a aspectos neuroendocrinos e inmunológicos como factores críticos en el envejecimiento.

La *Teoría inmunológica* del envejecimiento postula que los cambios en el sistema inmune son los verdaderos causantes del envejecimiento (Walford, 1969). Esta hipótesis se fundamenta en que desde la adolescencia se produce una disminución del tamaño del timo que evoluciona hasta que envejecemos. Como consecuencia, la

capacidad de respuesta del sistema inmunológico disminuye con la edad, volviéndose el organismo más vulnerable ante las enfermedades (Murasko *et al.*, 1987). Existen múltiples evidencias en favor de esta teoría. La más concluyente procede de estudios realizados con personas centenarias que mantienen, a pesar de su edad avanzada, la integridad del sistema inmune (Franceschi & Bonafe, 2003).

La *Teoría neuroendocrina* propone que el envejecimiento es consecuencia de una pérdida progresiva de función neuronal y hormonal provocada por disfunciones del eje hipotálamo-hipofisario adrenal que forma parte del sistema neuroendocrino (Mobbs, 1996). El declive de las funciones reproductivas femeninas durante el envejecimiento supone una de las evidencias más concluyentes en favor de esta teoría (Wise *et al.*, 1996), mientras que la existencia de organismos que envejecen sin poseer sistema endocrino se encuentra entre sus críticas más destacadas (Troen, 2003).

Una caracterización detallada de los procesos de envejecimiento fisiológico y patológico nos permitirá entender mejor aquellos fenómenos que cursan de forma natural con el envejecimiento del organismo y/o aquellas patologías que tienen una mayor incidencia en la última etapa de nuestras vidas. Esta tarea, a la que dedicaremos los siguientes apartados, nos permitirá adentrarnos en algunos de los procesos neurodegenerativos que cursan con el envejecimiento.

2.3. Envejecimiento fisiológico

2.3.1. Alteraciones de la morfología neuronal y cambios en la anatomía cerebral

Los cambios neurológicos asociados al envejecimiento normal vienen determinados por una amalgama de procesos moleculares, celulares y fisiológicos que conducen al deterioro de las funciones cognitivas y sensoriomotoras (Park & Reuter-Lorenz, 2009; Rodrigue & Raz, 2004). A continuación, describiremos de forma resumida los cambios cerebrales más relevantes que caracterizan al envejecimiento fisiológico.

Aunque en un principio se pensó que el envejecimiento cerebral ocurría fundamentalmente por una muerte neuronal programada (Coleman & Flood, 1987; Dayan, 1970), estudios realizados con tejido cerebral *post mortem* de personas mayores sanas han mostrado que dicha muerte neuronal no alcanza el 10% (Esiri, 2007; Morrison & Hof, 1997). Sin embargo, los cambios morfológicos que sufren las neuronas durante el envejecimiento son abundantes, observándose una importante disminución de la arborización dendrítica así como de la densidad, volumen y distribución de sus espinas dendríticas (Dickstein *et al.*, 2007). De hecho, diferentes estudios han encontrado una disminución de la arborización dendrítica y de las espinas dendríticas de las neuronas piramidales de la corteza prefrontal (De Brabander *et al.*, 1998; Jacobs *et al.*, 1997), temporal superior, precentral (Nakamura *et al.*, 1985; Scheibel *et al.*, 1975) y occipital (Jacobs *et al.*, 1997). Todas estas alteraciones morfológicas conducen a una disminución de la densidad sináptica (Terry *et al.*, 2001) y a una desmielinización axónica en neuronas de la neocorteza (Peters *et al.*, 1996). Dichas alteraciones pueden acompañarse a su vez de mecanismos compensatorios en regiones cerebrales diferentes a las afectadas (Buell & Coleman, 1981).

La organización anátomo-funcional del cerebro humano cambia con el paso del tiempo, afectando de forma dispar a las diferentes capacidades cognitivas. Además, la vulnerabilidad de los circuitos neuronales ante los procesos de envejecimiento no ocurre de forma homogénea en todo el cerebro (Walhovd *et al.*, 2011). El estudio de los cambios anatómicos asociados al envejecimiento fisiológico tiene una especial relevancia ya que permite evaluar cómo estos cambios correlacionan con el deterioro funcional que caracteriza a las personas mayores. También facilita la identificación de estadios tempranos de diferentes patologías neurodegenerativas, estableciendo diferencias entre éstas y los cambios asociados al envejecimiento fisiológico.

A nivel macroscópico, el cerebro durante el envejecimiento sufre una reducción progresiva tanto del peso (Dekaban & Sadowsky, 1978) como de su volumen (Hubbard

& Anderson, 1981; Davis & Wright, 1977) que se atribuyen fundamentalmente a la reducción de sustancia gris y blanca en diferentes regiones córtico-subcorticales. Esta conclusión ha sido confirmada a partir de estudios morfométricos realizados con resonancia magnética (RM) estructural (Resnick *et al.*, 2000), mostrando además que la pérdida de sustancia gris es más evidente en regiones neocorticales que en estructuras subcorticales (Fjell & Walhovd, 2010; Fjell *et al.*, 2009). Como consecuencia de la disminución de la sustancia gris cortical, se produce una reducción de la girificación en las circunvoluciones, así como un incremento de la profundidad y expansión de los surcos de la corteza, siendo estos fenómenos más acentuados en los lóbulos frontales, temporales y parietales, y menos evidentes en la corteza occipital (Raz, 2004; Beason-Held & Horwitz, 2002). Los cambios de presión externa producidos por la dilatación de las astas frontales y por la disminución de la sustancia blanca periventricular durante el envejecimiento provocan también un aumento del espacio ventricular que conduce a la expansión del líquido cerebroespinal (LCE) (Gunning-Dixon & Raz, 2000).

Respecto al lóbulo temporal medial (LTM), los cambios más importantes asociados al envejecimiento se limitan a la corteza temporal inferior, corteza parahipocampal, corteza entorrinal, e hipocampo (Fjell *et al.*, 2009). Estructuras como el hipocampo y la corteza entorrinal han sido quizás las más estudiadas en relación con el envejecimiento, dado el papel central que desempeñan en los procesos de memoria (Squire & Zola-Morgan, 1991). Estudios de neuroimagen han mostrado que ambas estructuras cerebrales son las que muestran una reducción de volumen más acentuada durante el envejecimiento (Fjell *et al.*, 2009; Raz, 2005; 2004). Más específicamente, la tasa de atrofia anual del hipocampo oscila entre el 0,8 y el 2% (Barnes *et al.*, 2009), mientras que la de la corteza entorrinal varía entre 0,3% y 2,4% en personas mayores sanas (Fjell & Walhovd, 2010).

Por otra parte, el envejecimiento reduce significativamente el volumen de estructuras subcorticales como la amígdala (Allen *et al.*, 2005), el núcleo caudado (Raz *et al.*, 2005), el tálamo (Hughes *et al.*, 2012) y el cerebelo (Nyberg *et al.*, 2010; Fjell *et al.*, 2009).

2.3.2. Alteraciones de la función cognitiva

El envejecimiento se caracteriza por un deterioro progresivo de determinadas funciones cognitivas superiores, mientras que otras capacidades cognitivas y sensoriomotoras se mantienen relativamente conservadas durante los últimos años de nuestras vidas. A continuación, describiremos los cambios cognitivos más evidentes asociados a los procesos de envejecimiento fisiológico, centrándonos en aquellos que afectan a la memoria, lenguaje, atención y función ejecutiva.

2.3.2.1. Memoria

La memoria declarativa, entendida como la recuperación consciente de eventos pasados, incluye dos sistemas cerebrales con sustratos anatómicos bien diferenciados. Mientras que la memoria semántica hace referencia al conocimiento general del mundo, la memoria episódica engloba a la recuperación de los aspectos contextuales de experiencias pasadas. Tulving (1972) acuñó el término de memoria episódica para referirse a la capacidad del individuo para integrar y recuperar información sobre "dónde" ha ocurrido un determinado episodio, "qué" ha ocurrido durante ese episodio, y "cuándo" se produjo. Durante el envejecimiento, esta capacidad cognitiva se vuelve especialmente vulnerable (Beason-held & Horwitz, 2002; Tulving, 1983), estimándose que más del 40% de las personas mayores de 60 años sufren un deterioro progresivo de este tipo de memoria (Hanninen *et al.*, 1996). Este deterioro funcional se atribuyó originalmente a un enlentecimiento del procesamiento (Park & Gutchess, 2004; Craik & Byrd, 1982). Como resultado de este enlentecimiento, operaciones como la

codificación podrían no desarrollarse con éxito debido a una limitación temporal; o los productos de dichas operaciones podrían no estar disponibles para los procesos posteriores debido a una incapacidad para simultanear operaciones (Salthouse, 1996).

Estudios más recientes han revelado que el deterioro de la memoria episódica en personas mayores podría estar causado por fallos en los mecanismos de codificación de la información (Glisky, 2007). Más concretamente, el recuerdo de los detalles contextuales está alterado durante el envejecimiento debido a la dificultad para establecer asociaciones entre los diferentes elementos que integran el evento episódico, lo que explicaría el peor rendimiento mostrado por las personas mayores en tareas de memoria asociativa (Overman & Becker, 2009; Rugg *et al.*, 2008; Naveh-Benjamin, 2000). Además, el deterioro de los mecanismos atencionales y el pobre control ejecutivo que acompañan al envejecimiento afectan de forma negativa a los procesos de codificación. Esta hipótesis encuentra soporte experimental en aquellos estudios que muestran las dificultades de las personas mayores para auto-iniciar las estrategias cognitivas que conducen a una codificación exitosa de la información (Craig & Rose, 2011; Naveh-Benjamin *et al.*, 2009). Por lo tanto, si durante el envejecimiento se produce una codificación defectuosa, los siguientes procesos que forman la memoria (consolidación y recuperación) se verán consecuentemente afectados.

Sin embargo, no todos los recuerdos requieren de la reconstrucción del evento codificado. En el caso de la memoria semántica, los recuerdos se recuperan conceptualmente, sin referencias al "qué", "dónde" y "cuándo". En este caso, los efectos del envejecimiento no son especialmente evidentes, al menos hasta los 80 años (Spaniol *et al.*, 2006). De hecho, las personas mayores pueden acumular un conocimiento sobre el mundo que en muchos casos supera al de los jóvenes y adultos (Glisky, 2007). Ciertamente, el envejecimiento enlentece el acceso a determinada información semántica, sin que por ello la organización de dicho sistema esté afectada (Light, 1992).

La memoria semántica parece ser más resistente a los efectos del envejecimiento. En esta dirección, estudios recientes han sugerido que las personas mayores son capaces de reducir el déficit en memoria episódica cuando se promueve la utilización de estrategias semánticas durante la codificación. Esto es posible ya que dichas estrategias hacen que los niveles de elaboración semántica sean más profundos durante la fase de codificación (Crespo-García *et al.*, 2012), sugiriendo en algunos casos que la memoria semántica podría facilitar el uso espontáneo de estrategias durante la codificación (Badham *et al.*, 2011).

Por otro lado, la memoria de trabajo proporciona el almacenamiento temporal y la manipulación activa de información necesaria para realizar actividades cognitivas complejas (Baddeley, 1992). Diversos estudios han mostrado que el rendimiento de la memoria de trabajo decae significativamente durante el envejecimiento (Zahr *et al.*, 2009). Algunos investigadores sugieren, de hecho, que el deterioro de la memoria de trabajo podría ser responsable de las alteraciones en otros tipos de memoria, como es el caso de la memoria episódica (Anguera *et al.*, 2010). Aunque los mecanismos subyacentes a este deterioro aun no están del todo claros, podrían estar relacionados con la menor disposición de recursos para el tratamiento y almacenamiento temporal de la información que poseen las personas mayores (Stern & Rakitin, 2004), dado que la atención, la velocidad de procesamiento y la capacidad de inhibir información irrelevante están afectados durante el envejecimiento y son importantes para el funcionamiento eficaz de la memoria de trabajo.

2.3.2.2. Lenguaje

Numerosos estudios han observado un deterioro del lenguaje asociado al envejecimiento que afecta al léxico (Wlotko *et al.*, 2010; Crook & West, 1990), sintaxis (Obler *et al.*, 1991; Emery, 1986) y a la organización del discurso (Juncos-Rabadán, 1996; Holland & Rabbit, 1990). Algunas de estas investigaciones muestran que los

procesos cerebrales que acompañan al envejecimiento afectan principalmente a la velocidad y eficacia en la elaboración de juicios léxico-semánticos (Wlotko *et al.*, 2010), mientras que la capacidad de lectura, nivel de vocabulario y procesamiento semántico se mantienen conservados (Damasceno, 1999). El deterioro del procesamiento léxico parece estar relacionado con las alteraciones en la memoria de trabajo (Bondi *et al.*, 2002) y, en último extremo, con la disminución de volumen de la sustancia blanca cerebral que acompaña al envejecimiento (Kemnatsu *et al.*, 2012).

La producción del lenguaje también está afectada en las personas mayores, siendo muy frecuentes las dificultades para evocar nombres de objetos y de personas. Estudios previos han mostrado que las personas de edad avanzada presentan dificultades de acceso léxico, especialmente de nombres propios, con presencia de fenómenos conocidos como el de la punta de la lengua (Shafro *et al.*, 2007; Evrard, 2002). Asimismo, el rendimiento en estas tareas mejora sensiblemente tras la administración de ayudas fonéticas (Mackay *et al.*, 2002; Barresi *et al.*, 2000; Nicholas *et al.*, 1985). Por lo tanto, es posible que las dificultades en los procesos de denominación asociadas al envejecimiento normal estén reflejando un deterioro de la capacidad para acceder a la forma fonológica de las palabras (acceso léxico), y no una pérdida de conocimiento semántico como parece ocurrir en algunas manifestaciones del envejecimiento patológico (Cuetos *et al.*, 2003; Grossman, 2003; Beatty *et al.*, 2002). Se ha propuesto también la existencia de diferencias a nivel visoperceptivo entre jóvenes y mayores como posible explicación de las diferencias en denominación (Morrison *et al.*, 2003). De esta forma, cuando se iguala la inteligibilidad de los estímulos para los distintos grupos de edad, desaparece gran parte de las diferencias de rendimiento entre ambos grupos (Burke & Shafro, 2008).

2.3.2.3. Atención y función ejecutiva

A medida que envejecemos, el pensamiento se vuelve más concreto (Axelrod & Henry, 1992) quedando afectadas capacidades como la planificación y la flexibilidad cognitiva (Sorel & Pennequin, 2008). Sin embargo, no todos los aspectos de las funciones ejecutivas se deterioran por igual. En esta dirección, Treitz *et al.* (2007) compararon el rendimiento en diferentes tareas de función ejecutiva en diversos grupos de edad (20 a 75 años). Encontraron que tanto la capacidad para atender a diferentes estímulos como para elaborar nuevas estrategias dirigidas a la resolución de problemas se ven significativamente afectadas a partir de los 60 años. Sin embargo, la capacidad de razonamiento y de fluidez verbal se mantuvo prácticamente intacta en todos los grupos de edad. En general, el deterioro de las funciones ejecutivas en personas de edad avanzada se ha atribuido a una pérdida de integridad en los haces de fibras nerviosas que componen los circuitos fronto-estriados, acompañado por atrofas de la corteza frontal y del núcleo estriado (Buckner, 2004).

Los mecanismos atencionales también están afectados durante el envejecimiento. La *teoría del déficit inhibitorio* postula que a medida que nos hacemos mayores, el subsistema de atención selectiva, que refleja la capacidad para focalizar la atención en algo concreto ignorando el resto de información, se deteriora progresivamente (Hasher & Zacks, 1988). De esta forma, las personas mayores muestran un peor rendimiento en tareas que requieren de un control flexible de la atención, que está directamente relacionado con la integridad del lóbulo frontal (Eckert, 2011; Beason-held & Horwitz, 2002). Por lo tanto, la pérdida del control inhibitorio que caracteriza al envejecimiento provoca un uso excesivo de información irrelevante, dificultando así la capacidad de procesamiento de la información relevante (Solesio-Jofre *et al.*, 2012; Collette *et al.*, 2009) e incrementando las respuestas inapropiadas y el tiempo necesario para emitir una respuesta (Pousada-Fernández, 1998). Diversos estudios han mostrado que la disminución del volumen de la corteza prefrontal está relacionada con la pérdida de

eficiencia en el control inhibitorio en este sector de la población (Hu *et al.*, en prensa; Chao & Knight, 1997).

2.3.3. Alteraciones del ciclo vigilia-sueño

El sueño es un fenómeno biológico esencial para la homeostasis de la arquitectura modular del organismo, desde las células hasta los diferentes sistemas que lo componen. Una constatación de la relevancia que tiene el sueño para nuestra supervivencia es la cantidad de horas que pasamos durmiendo a lo largo de nuestra vida. La Figura 3 muestra de forma ilustrativa los cambios más característicos que sufre la arquitectura del sueño humano durante la vida.

La cantidad de sueño que requiere cada organismo depende fundamentalmente de sus necesidades fisiológicas y de las demandas del ambiente al que está expuesto (Corsi-Cabrera, 1983). En el caso de los humanos, es posible establecer una clasificación de patrones de sueño en función de su duración (corta, intermedia y larga) (Moorcroft, 1993). Algunos estudios sugieren que las personas que muestran un patrón de sueño intermedio, duración aproximada de entre 7-8 horas, presentan un mejor estado de salud a lo largo de su vida, mientras que una duración de sueño corta o excesivamente larga suele acompañarse frecuentemente de problemas de salud y/o laborales (Kripke *et al.*, 2002). Por otra parte, la estabilidad del sueño nocturno es otro factor a tener en cuenta. Es razonable pensar que un sueño muy fragmentado no cumplirá con sus funciones fisiológicas de igual forma que un patrón de sueño estable a lo largo de la noche.

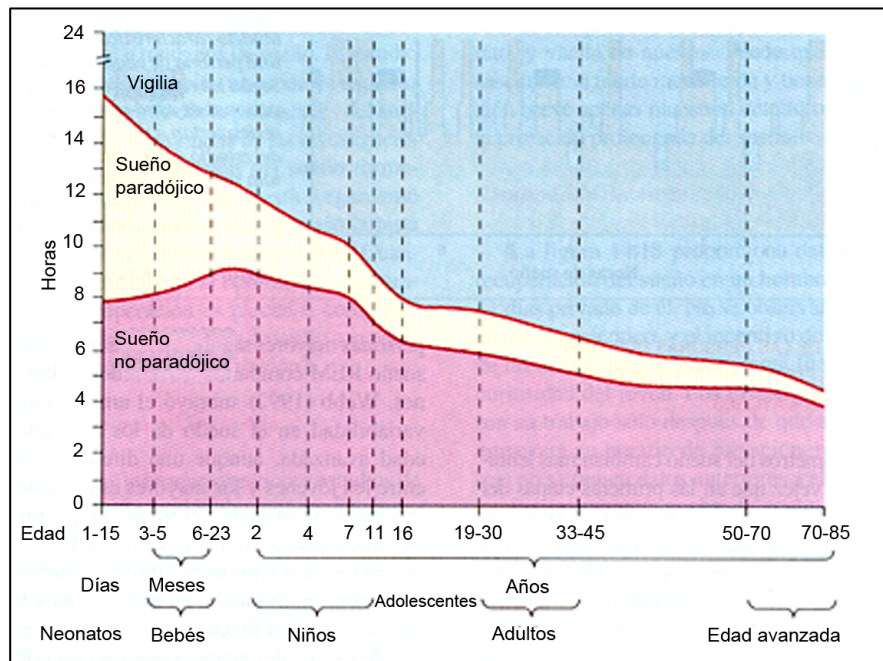


Figura 3. Evolución ontogénica de la arquitectura del sueño humano (modificada de Roffwarg *et al.*, 1966).

Estudios recientes han mostrado que alrededor del 50% de las personas mayores se quejan de la calidad de su sueño (Boudreau, 2013; Woodward, 2012; Roepke & Ancoli-Israel, 2010). En un estudio realizado con 9000 personas mayores de 65 años, el 80% mencionó tener algún problema de sueño, mientras que el 50% informó padecer alteraciones del sueño de forma crónica, especialmente dificultades para iniciar o mantener el sueño (Foley *et al.*, 1995). Este resultado ha sido corroborado y extendido a otras alteraciones del sueño en personas mayores, siendo los problemas más frecuentes la dificultad para conciliar el sueño (36,7%), problemas para mantener el sueño (28,7%), el despertar muy temprano por la mañana (19,1%) y la somnolencia diurna (18,9%) (Ganguli *et al.*, 1996). Sin embargo, cuando se descartan otras comorbilidades, la prevalencia de las alteraciones de sueño en personas mayores disminuye sensiblemente (Foley *et al.*, 1999). En esta dirección, las alteraciones de sueño en personas mayores se han asociado con la presencia de enfermedades crónicas, problemas físicos y de salud mental (Calhoun & Harding, 2010; Reid *et al.*,

2006; Foley *et al.*, 2004). Foley *et al.* (1999) encontraron que los problemas de inicio y mantenimiento del sueño incrementan en personas mayores con sintomatología depresiva, problemas respiratorios, discapacidad física y una mala salud en general. Estudios posteriores han confirmado una mayor incidencia de insomnio en pacientes con enfermedades cardiovasculares, y todavía superior cuando incrementan las patologías médicas que padece el paciente (Foley *et al.*, 2004). Otros trabajos han observado asociaciones entre el insomnio y artritis, hipertensión, enfermedad cardíaca coronaria y diabetes en personas mayores (Reid *et al.*, 2006; Vitiello *et al.*, 2002). Una de las condiciones comórbidas que más afectan a la calidad del sueño es el dolor crónico (Chen *et al.*, 2011), consecuencia inevitable de muchas de las patologías que acompañan al envejecimiento.

Hallazgos recientes han puesto de manifiesto la posible relación entre las alteraciones del sueño y el deterioro cognitivo asociado al envejecimiento (Amer *et al.*, 2013; Miyata *et al.*, 2013; Potvin *et al.*, 2012; Lim *et al.*, 2012; Keage *et al.*, 2012; Jaussent *et al.*, 2012). Concretamente, una duración más corta del sueño nocturno y una mala eficiencia de sueño en personas mayores se relaciona con una peor ejecución en tareas de memoria, sugiriendo que la pérdida de calidad de sueño durante el envejecimiento podría incidir negativamente sobre los mecanismos cerebrales que subyacen a la memoria (Miyata *et al.*, 2013). Por lo tanto, el insomnio en personas mayores podría ser más problemático que en otros grupos de edad, dado que cursa con deterioro cognitivo (Ancoli-Israel, 2005) y empeora con la edad (Potvin *et al.*, 2012).

En general, las personas mayores informan que duermen menos durante la noche, y se acuestan y se despiertan más temprano de lo habitual. Además, tardan más tiempo en conciliar el sueño, se despiertan con más frecuencia durante la noche y la duración de estos despertares es más prolongada (Harrington & Lee-Chiong, 2007; Cooke & Ancoli-Israel, 2006; Reid *et al.*, 2006). La disminución del tiempo de sueño asociada al

incremento del tiempo despierto durante la noche reduce significativamente la eficiencia de sueño (Roepke & Ancoli-Israel, 2010). Este fenómeno desemboca en un aumento de la somnolencia diurna y, por tanto, en un incremento del número de períodos de sueño diurno (Tractenberg *et al.*, 2006) en las personas mayores. Estas alteraciones se agravan con los años, sobre todo la dificultad para mantener la continuidad del sueño (Ganguli *et al.*, 1996), afectando seriamente a la calidad de vida del individuo.

El envejecimiento también cursa con alteraciones circadianas del ritmo vigilia-sueño. Más concretamente, las personas mayores presentan un avance de fase causado por la pérdida progresiva de sincronización entre los relojes circadianos internos y los sincronizadores externos (Gibson *et al.*, 2009). Esto explicaría el adelanto de la hora de acostarse y los despertares matutinos más temprano de lo deseado en individuos de edad avanzada. Este desfase circadiano resulta en un periodo de sueño más corto y, como consecuencia de ello, en un incremento de la sensación de somnolencia durante el día. Aunque inicialmente se sugirió que estas alteraciones eran exclusivamente funcionales, estudios *post mortem* realizados con tejido cerebral humano han demostrado que las personas mayores presentan atrofas del núcleo preóptico ventrolateral (NPVL) (Swaab & Fliers, 1985), una estructura del hipotálamo anterior que facilita el inicio del sueño y su continuidad (Sherin *et al.*, 1996).

El sueño nocturno de las personas mayores se vuelve más inestable y pierde estabilidad, como resultado del incremento en la densidad y duración de los “arousals” que ocurren durante la noche (Pivik *et al.*, 1999). Los arousals son variaciones repentinas de la actividad EEG que correlacionan con fluctuaciones del nivel de activación cerebral, pudiendo desembocar o no finalmente en un despertar (American Sleep Disorder Association, 1992). El incremento en la densidad y duración de los arousals durante el sueño nocturno provoca una fragmentación del sueño que

generalmente cursa con un incremento de la somnolencia diurna e incide negativamente en la función cerebral del día siguiente (Chugh *et al.*, 1996).

Estudios PSG han confirmado que la arquitectura del sueño está alterada en personas mayores. El tiempo total de sueño (TTS) disminuye con la edad, siendo las principales causas el aumento en la frecuencia y duración de los despertares nocturnos y el aumento de la latencia del comienzo del sueño (Unruh *et al.*, 2008; Vitiello *et al.*, 2004; Webb, 1982; Feinberg *et al.*, 1967). Todos estos aspectos inciden negativamente sobre la eficiencia de sueño (Unruh *et al.*, 2008). Se ha estimado que el tiempo medio de vigilia nocturna aumenta en 28 minutos por década (Van Cauter *et al.*, 2000). También se produce un acortamiento del sueño profundo (fases 3 y 4 del sueño no-REM: NREM), así como una disminución en la amplitud de las ondas lentas que caracterizan a dichas fases del sueño (Brandenberger *et al.*, 2003; Van Cauter *et al.*, 2000; Larsen *et al.*, 1995; Reynolds *et al.*, 1991). Otros estudios han mostrado que la reducción en el sueño profundo es sustituida por un incremento del tiempo pasado en las fases ligeras del sueño NREM (fases 1 y 2) (Van Cauter *et al.*, 2000). Con respecto al sueño REM, algunos autores encuentran reducciones de hasta el 30% en personas mayores (Campbell & Murphy, 2007; Vitiello *et al.*, 2004). Un estudio de meta-análisis concluye que el porcentaje de sueño REM disminuye con la edad junto con un incremento de las fases ligeras del sueño (Ohayon *et al.*, 2004).

2.4. Envejecimiento patológico

De los anteriores apartados se extrae que el organismo se vuelve más vulnerable conforme envejece. Lo mismo ocurre, aunque de forma más acelerada, en aquellos procesos neurodegenerativos que cursan con el envejecimiento. Este escenario ejemplifica las dificultades para determinar cuándo una manifestación sintomática forma parte del envejecimiento normal o supone la antesala de una patología neurodegenerativa. Este hecho cobra especial relevancia si consideramos que el

envejecimiento *per se* es el factor de riesgo más importante para desarrollar deterioro cognitivo y ciertas enfermedades neurodegenerativas como la EA (Gao *et al.*, 1998; Hebert *et al.*, 1995), condición neurológica considerada como la causa más frecuente de demencia en personas de edad avanzada (Feldman & Jacova, 2007).

En los siguientes apartados, realizaremos un breve repaso histórico de la evolución del concepto de DCL, considerado como la fase preclínica de la EA (Gauthier *et al.*, 2006; Winblad *et al.*, 2004; Petersen *et al.*, 1999). Describiremos sus características y revisaremos los diferentes marcadores cerebrales y cognitivos que caracterizan a este estadio preclínico, con el objetivo de clarificar los límites biológicos entre el envejecimiento normal y el patológico.

2.4.1. Concepto de deterioro cognitivo leve (DCL)

Las lesiones de la EA fueron descritas por primera vez en el año 1906 por el neuropsiquiatra alemán Alois Alzheimer, tras practicar la autopsia cerebral a una paciente que presentaba un cuadro caracterizado por un deterioro cognitivo progresivo, síntomas focales, alucinaciones y escasa capacidad de integración social. Alois Alzheimer identificó dos tipos de lesiones en el cerebro de esta paciente, que un siglo más tarde se siguen considerando como los marcadores neuropatológicos de la EA. Por una parte, observó concentraciones intracelulares anormales de proteína tau hiperfosforilada, a las que denominó ONF; y por otra, encontró agregados extracelulares anormales del péptido A β , que llamó placas seniles. A estos dos hallazgos neuropatológicos se le unía una atrofia generalizada de la corteza cerebral. La denominación de este cuadro clínico como EA fue formalizada en 1910 por Emil Kraepelin, padre de la psiquiatría científica moderna.

A pesar de que en la actualidad se utiliza una combinación de marcadores clínicos, de neuroimagen y genéticos para establecer el diagnóstico probable de EA, el diagnóstico definitivo de esta patología neurodegenerativa sólo se puede confirmar tras realizar la

autopsia cerebral al paciente. Sin embargo, en el momento en el que se establece el diagnóstico probable de EA, las lesiones cerebrales suelen estar bastante extendidas (Markesbery *et al.*, 2006; Guillozet *et al.*, 2003) y las intervenciones farmacológicas son poco efectivas. En los años que preceden al diagnóstico de EA, la sintomatología no es demasiado evidente y podría pasar desapercibida tanto por el afectado como por sus familiares, al confundirse con cambios cognitivos asociados al envejecimiento normal. Sin embargo, podríamos estar ante la fase preclínica de la EA denominada DCL (Petersen *et al.*, 1999).

El término DCL fue definido originalmente por Charles Flicker y colaboradores a comienzos de la década de los 90 (Flicker *et al.*, 1991) como un estado de alteración cognitiva leve que podría evolucionar a algún tipo de demencia, en clara referencia al estadio GDS-3 de la *Global Deterioration Scale* (GDS) (Reisberg *et al.*, 1982). Años más tarde, Ronald Petersen y colaboradores establecieron por primera vez los criterios diagnósticos del DCL (Petersen *et al.*, 1997), que fueron posteriormente validados en una serie de experimentos desarrollados en la Clínica Mayo (Petersen *et al.*, 1999). Estos investigadores observaron que la función cognitiva global no difería entre controles y DCL, mientras que las puntuaciones en las pruebas de memoria se asemejaban más a las obtenidas por pacientes con EA. Un 12% de los sujetos con DCL progresaron a EA un año más tarde, porcentaje que se elevó al 80% transcurridos 6 años, en comparación con el 1-2% de conversión a EA que mostraron los controles sanos (Petersen *et al.*, 1999). Además, la tasa de conversión suele ser mayor en aquellos sujetos con DCL que portan el genotipo ApoE $\epsilon 4^+$, factor de riesgo genético más importante en la EA (Corder *et al.*, 1993). Estos experimentos sirvieron para alimentar la hipótesis de que el DCL es un estado intermedio entre el envejecimiento normal y la EA, que caracteriza a personas mayores en riesgo de desarrollar este tipo de demencia.

Según Petersen y colaboradores (1997), para que una persona mayor sea considerada como DCL debe cumplir los siguientes criterios: i) quejas subjetivas de memoria, confirmada siempre que sea posible por un familiar o cuidador ii) confirmación objetiva, mediante pruebas neuropsicológicas, de las alteraciones de memoria (puntuaciones de al menos 1,5 desviaciones típicas por debajo de la media para su edad y nivel educativo); iii) puntuaciones normales en el resto de funciones cognitivas; iv) autonomía para desarrollar las actividades de la vida diaria; y v) no reunir criterios diagnósticos de demencia (Petersen *et al.*, 1997). En estos criterios de DCL se enfatizaba el deterioro selectivo de la memoria, mientras se mantenían íntegros el resto de dominios cognitivos.

Años más tarde, el *European Consortium on Alzheimer's Disease* revisó el concepto de DCL y propuso una serie de modificaciones (Portet *et al.*, 2006): i) el paciente debe presentar quejas cognitivas que eventualmente sean corroboradas por el acompañante; ii) el paciente o el acompañante deben referir un deterioro cognitivo que se acentúa en los últimos 12 meses; iii) estas alteraciones cognitivas deben ser corroboradas clínicamente; iv) las alteraciones cognitivas no deben tener una repercusión importante en las actividades de la vida diaria; y v) el paciente no reúne criterios diagnósticos de demencia.

Estos criterios convierten al DCL en una entidad más heterogénea que puede subdividirse en diferentes subtipos. El sujeto podría tener exclusivamente afectada la memoria (DCL amnésico), o por el contrario la memoria podría estar preservada, siendo otro dominio cognitivo el que se viera afectado (DCL no amnésico). En ambos casos, el dominio cognitivo afectado puede ser único (DCL de dominio único) o múltiple (DCL multi-dominio) (Petersen & Negash, 2008; Feldman & Jacova, 2005). Esta categorización permitió asociar cada subtipo de DCL a otras enfermedades neurológicas y psiquiátricas, de tipo vascular o degenerativa (Petersen, 2004). En la Figura 4 se muestran los diferentes subtipos de DCL y su patogenia asociada.

		Patogénesis			
		Degenerativa	Vascular	Psiquiátrica	Médica
DCL amnésico	Dominio único	EA		Depresión	
	Múltiple dominio	EA	Vascular	Depresión	
DCL no-amnésico	Dominio único	FT			
	Múltiple dominio	cuerpos de Lewi			

Figura 4. Evolución clínica de los diferentes subtipos de DCL (modificada de Petersen *et al.*, 2004). EA: enfermedad de Alzheimer; FT: demencia frontotemporal.

Las personas mayores con DCL presentan un elevado riesgo de desarrollar demencia (Busse *et al.*, 2006). Sin embargo, aquellos estudios que evalúan las tasas de conversión a EA muestran que algunos sujetos con DCL permanecen estables, pudiendo incluso mejorar su estado cognitivo (Ganguli *et al.*, 2011). Varios estudios han estimado la progresión de DCL a EA, pero los resultados varían en función de múltiples factores como las diferentes características de la muestra, utilización de criterios heterogéneos de DCL y/o diferentes tiempos de seguimiento (Geslani *et al.*, 2005). Por ejemplo, Busse y colaboradores (2003) estimaron una tasa de conversión anual entre el 6 y 25% (Busse *et al.*, 2003) en comparación con el 1-2% de los controles (Farias *et al.*, 2009; Petersen *et al.*, 2001). En un estudio de seguimiento de 6 años realizado a 1045 personas mayores, se observó que entre el 60-65% de los que mostraban DCL desarrollaban una demencia en los primeros 18 meses de estudio (Busse *et al.*, 2006). Otros estudios longitudinales realizados en DCL han establecido la tasa de conversión en el 13,7% durante el primer año, aumentando hasta el 34,7%

durante el tercer año. Del total de las conversiones, el 78,3% desarrollaron EA (Allegri *et al.*, 2010).

Uno de los factores que más podría estar influyendo en la variabilidad de las tasas de conversión a EA es la patogénesis del propio DCL (Figura 4). En esta línea, diversos estudios han mostrado que las personas con DCLa tienen cuatro veces más riesgo de desarrollar la enfermedad que otros subtipos de DCL (Dubois *et al.*, 2007), los cuales tienen una mayor probabilidad de evolucionar a otras enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson y la demencia fronto-temporal. La presencia de síntomas depresivos suele cursar con el deterioro cognitivo que caracteriza al envejecimiento (Richard *et al.*, 2013; Shahnawaz *et al.*, 2013), por lo que es importante descartar la etiología psiquiátrica de las alteraciones cognitivas antes de establecer el diagnóstico de DCL.

Existen otros factores de riesgo, de carácter demográfico y genético, que incrementan la probabilidad de desarrollar EA en personas con DCL, entre los que cabe destacar la edad y la presencia del alelo $\epsilon 4$ en el gen ApoE. La prevalencia de las demencias, sea cuál sea la etiología, incrementa de forma exponencial entre los 65 y 85 años y se duplica cada 5 años después de los 65 años, alcanzando un 13% en personas de 75 a 84 años, y llegando hasta un 25% en mayores de 85 años (Feldman & Jacova, 2007). Si nos centramos específicamente en la EA, su incidencia es 14 veces superior en mayores de 85 años en comparación con personas de entre 65 y 69 años (Hebert *et al.*, 1995). Aunque esta observación ha quedado en entredicho tras un estudio de meta-análisis que mostraba que la incidencia de la EA es 1,5 veces mayor en personas mayores de 85 años, frente al triple en menores de 65 y al doble en personas con menos de 75 años (Gao *et al.*, 1998).

El genotipo ApoE $\epsilon 4$ es el factor de riesgo genético más importante en la EA (Corder *et al.*, 1993), aunque otros genes parecen también tener una cierta relevancia en esta

patología neurodegenerativa (Hollingworth *et al.*, 2011; Seshadri *et al.*, 2010; Lambert *et al.*, 2009; Harold *et al.*, 2009), destacando aquellos que comparten un papel importante con el metabolismo de lípidos (Wollmer, 2010). El gen de la ApoE se encuentra situado en el cromosoma 19, y puede presentar tres isoformas diferentes: ApoE ϵ 2, ApoE ϵ 3 y ApoE ϵ 4. Estudios recientes indican que la isoforma ApoE ϵ 4 está presente en el 50% de los pacientes con EA comparado con el 20-25% de los individuos sanos (Verghese *et al.*, 2011), y su presencia podría explicar un 20% del riesgo de desarrollar esta patología neurodegenerativa (Lambert & Amouyel, 2011). Dicha probabilidad podría alcanzar el 62% en sujetos con DCL (Aggarwal *et al.*, 2005). Incluso la presencia de la ApoE ϵ 4 ha mostrado ser un excelente predictor del deterioro cognitivo en personas mayores cognitivamente intactas (Boyle *et al.*, 2010). Por lo tanto, portar el genotipo ApoE ϵ 4 es un factor de riesgo genético tanto para el desarrollo de EA (Kim *et al.*, 2009; Rogaeva *et al.*, 2006) como de DCLa (Tervo *et al.*, 2004), aunque no todos los portadores de este genotipo desarrollarán esta patología neurodegenerativa.

2.4.2. Alteraciones de la morfología neuronal y cambios en la anatomía cerebral

Diferentes líneas de evidencia han mostrado que los sujetos con DCL presentan un mayor daño cerebral si se les compara con personas mayores cognitivamente intactas, lo cual tiene su correlato en las alteraciones de la morfología neuronal y de la densidad sináptica. Desde el punto de vista estructural y de organización de la corteza cerebral, se han observado disminuciones significativas del grosor de las microcolumnas de diferentes regiones de la corteza temporal, que a su vez correlacionaron con un deterioro de la función cognitiva en sujetos con DCL (Chance *et al.*, 2011). Estos resultados sugieren una cierta vulnerabilidad de esta región cortical a las lesiones de la EA, incluso en las fases prodrómicas de esta patología neurodegenerativa.

Estudios previos realizados con tejido cerebral *post mortem* de personas mayores sanas, DCL y pacientes con EA, han encontrado un 18% de sinapsis menos en la capa CA1 del hipocampo en personas con DCL que en controles sanos, y que dicha pérdida de densidad sináptica guarda relación con el deterioro de la memoria en los casos con DCL (Scheff *et al.*, 2007). La disminución de la densidad sináptica se redujo al 13% en la capa molecular del giro dentado en sujetos con DCL (Scheff *et al.*, 2006). Estas alteraciones sinápticas se extienden a la corteza temporal superior, donde se observa una reducción significativa de los niveles de debrina, proteína sináptica utilizada como marcador de la plasticidad de las espinas dendríticas, en individuos con DCL. Paradójicamente, los niveles de debrina incrementaron un 30% en la corteza frontal en la misma población de sujetos, lo que podría estar reflejando un mecanismo compensatorio o la vulnerabilidad desigual de diferentes regiones corticales ante las lesiones que preceden al diagnóstico de la EA (Counts *et al.*, 2006). Los niveles de colina-acetiltransferasa han mostrado estar significativamente elevados en el hipocampo de sujetos con DCL, lo que también podría ser una respuesta compensatoria a la progresiva desconexión entre el hipocampo y la corteza entorrinal (Ikonomic *et al.*, 2003).

Por otra parte, diferentes estudios han observado que las personas con DCL presentan una mayor cantidad de ONF y agregados de A β que los controles sanos (Sabbagh *et al.*, 2006; Markesbery *et al.*, 2006; Guillozet *et al.*, 2003; Price & Morris, 1999), aunque otros trabajos han mostrado que estas lesiones también aparecen en personas mayores sin demencia (Morris & Price, 2001). Las personas con DCL muestran más ONF que los mayores sanos en la corteza entorrinal, hipocampo, lóbulo parietal inferior (Markesbery, 2010) y giro parahipocampal (Markesbery *et al.*, 2006), siendo más pronunciada la densidad de ONF en regiones de la corteza implicadas en procesos relacionados con la memoria (Guillozet *et al.*, 2003). Diferentes estudios sostienen que el deterioro de la memoria asociado al envejecimiento y aquel otro de carácter neurodegenerativo está directamente relacionado con la acumulación de ONF en

regiones del LTM, alimentando la hipótesis de que existe un continuo entre el envejecimiento normal, el DCL y la EA (Markesbery, 2010; Markesbery *et al.*, 2006; Guillozet *et al.*, 2003).

Los sujetos con DCL muestran más depósitos de A β que los controles sanos, afectando a diferentes regiones de la neocorteza y a la amígdala (Markesbery *et al.*, 2006; Morris & Price, 2001). Estudios con tomografía por emisión de positrones que utilizan el radiofármaco 11C-PIB (Pittsburgh compound B) como marcador de la presencia de A β en el cerebro humano, han mostrado que las personas mayores con DCL muestran una mayor retención de A β que los controles sanos en diferentes regiones de la neocorteza (Kemppainen *et al.*, 2007), confirmando así los resultados procedentes de estudios *post mortem* (Markesbery *et al.*, 2006; Morris & Price, 2001). Estudios recientes han observado que la acumulación de A β precede en años a las atrofas corticales sugiriendo que las placas seniles aparecen antes que se detecte el DCL (Jack *et al.*, 2008). Aunque existen controversias al respecto, ya que algunos estudios han relacionado la acumulación de A β con cambios en la función cognitiva en individuos con DCL (Koivunen *et al.*, 2012; Wolk *et al.*, 2009). Concretamente, se ha observado que los cambios de volumen cerebral tienen un mayor valor predictivo en la conversión del DCL a EA que la acumulación de A β , probablemente porque la acumulación de placas seniles alcanza su meseta durante la fase prodrómica de la EA, siendo mínimas sus variaciones durante las fases clínicas de la enfermedad (Koivunen *et al.*, 2011).

Estudios realizados con RM estructural han corroborado gran parte de los resultados obtenidos con tejido cerebral *post mortem* en personas mayores con DCL. En general, los individuos con DCL presentan atrofas significativas de estructuras del LTM, sobre todo del hipocampo (Mueller *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2009) y la corteza entorrinal (Stoub *et al.*, 2010) en comparación con los controles sanos, teniendo estas atrofas un importante valor predictivo para la conversión a EA (Stoub *et al.*, 2010; Tapiola *et al.*,

2008). Según algunos estudios, la disminución de volumen de la corteza entorrinal permite establecer diferencias más claras entre personas mayores con y sin DCL (Pennanen *et al.*, 2004; De Toledo-Morrel *et al.*, 2000), mientras que los niveles de atrofia de dicha estructura cortical predicen mejor la atrofia hipocampal que caracteriza a la EA (Miettinen *et al.*, 2011; Pennanen *et al.*, 2004).

Diversos trabajos han puesto de manifiesto la vulnerabilidad de las neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert ante los eventos neuropatológicos de la EA (Vogels *et al.*, 1990; Arendt *et al.*, 1985; McGeer *et al.*, 1984; Whitehouse *et al.*, 1981). Este núcleo del prosencéfalo basal tiene una especial relevancia en el contexto de la EA, dadas sus proyecciones colinérgicas con el hipocampo y la corteza cerebral, ambas estructuras seriamente afectadas por las lesiones de la EA. Estos hallazgos, la mayoría de ellos obtenidos con tejido cerebral *post mortem* de pacientes con EA, han sido corroborados con técnicas de neuroimagen en individuos con DCL. En esta línea, un estudio reciente, realizado con personas mayores con y sin DCL, encontró que las personas con DCL mostraban una atrofia selectiva del núcleo basal de Meynert que correlacionaba con una disminución de volumen en regiones de la corteza cerebral afectadas por la EA, además de mostrar asociaciones significativas con el deterioro de la memoria que presentaban estos pacientes (Grothe *et al.*, 2010). Éste y otros estudios en la misma dirección (Teipel *et al.*, 2010; Muth *et al.*, 2010) ponen de manifiesto que las lesiones colinérgicas que caracterizan a la EA comienzan años antes de que se establezca el diagnóstico clínico de la enfermedad, y que dicha afectación puede ser determinada con técnicas *in vivo* en personas mayores en riesgo de desarrollar EA.

La sustancia blanca cerebral también se ve afectada por las lesiones incipientes de la EA, lo cual tiene implicaciones para la comunicación entre regiones cerebrales. Los estudios con Imagen por Tensor de Difusión (DTI) han mostrado una pérdida de integridad de la microestructura de la sustancia blanca asociada con diferentes

estadios de la EA (p.e., Teipel *et al.*, 2010; Mielke *et al.*, 2009; Huang *et al.*, 2007, Zhang *et al.*, 2007; Müller *et al.*, 2007), siendo el cuerpo calloso, el haz cingulado y el fascículo longitudinal los tractos más afectados en sujetos con DCL y pacientes con EA. Hasta la fecha, solo tres estudios han encontrado alteraciones significativas de la integridad de los tractos de sustancia blanca al comparar DCL con mayores sanos (Chua *et al.*, 2009; Cho *et al.*, 2008; Fellgiebel *et al.*, 2005), aunque la interpretación de estos resultados debe realizarse con precaución dado que ninguno de ellos corrigió los falsos positivos derivados de las múltiples comparaciones estadísticas realizadas.

En resumen, los individuos con DCL tienen un mayor riesgo de desarrollar EA que las personas mayores sanas. Esta evidencia encuentra soporte experimental tanto en estudios de anatomía patológica realizados en tejido cerebral de personas con DCL como en estudios de neuroimagen estructural que apuntan a la corteza entorrinal y al hipocampo como regiones diana para detectar las lesiones incipientes causadas por la neurodegeneración. La mayor parte de estos estudios sitúan al DCL como un punto intermedio entre los procesos de envejecimiento normal y la EA (Markesbery, 2010; Markesbery *et al.*, 2006; Guillozet *et al.*, 2003).

2.4.3. Alteraciones de la función cognitiva

La heterogeneidad del DCL se sustenta en la presencia de alteraciones funcionales que afectan a un amplio rango de dominios cognitivos. Esta amalgama de disfunciones cognitivas da lugar a los diferentes subtipos de DCL que, a su vez, se muestran como las fases preclínicas de diversas enfermedades neurodegenerativas. A continuación, describiremos los dominios cognitivos más frecuentemente afectados en los sujetos con DCL, con el fin de establecer las diferencias con el envejecimiento fisiológico.

2.4.3.1. Memoria

Las alteraciones de la memoria son habituales en personas mayores, aunque tienden a acentuarse durante los diferentes estadios de la EA. El deterioro progresivo de la memoria episódica es uno de los síntomas que mejor caracteriza a la EA (Greene *et al.*, 1996; Grady *et al.*, 1988) y también al DCL (Dubois *et al.*, 2007), considerándose un importante factor de riesgo para el desarrollo de la enfermedad (Molinuevo *et al.*, 2011; Frisoni *et al.*, 2010). En tareas de recuerdo libre (p.e., listas de palabras o dígitos) los individuos con DCL muestran menos capacidad de aprendizaje, olvidan más rápido, y presentan un mayor número de intrusiones que las personas mayores sanas (Greenway *et al.*, 2006), observándose déficits más acentuados en la codificación que en la recuperación del material aprendido (Fouquet *et al.*, 2012).

Otros estudios han mostrado que el acceso a la información semántica también está alterado en personas con DCL (van der Meulen *et al.*, 2012; Adlam *et al.*, 2006; Dudas *et al.*, 2005), especialmente en aquellos casos en los que el acceso a dicha información es de carácter intencional (Duong *et al.*, 2006). De los diversos dominios que integran la memoria semántica, el conocimiento sobre personas concretas es especialmente vulnerable desde estadios muy tempranos y puede ser un buen predictor de la progresión a EA (Clague *et al.*, 2011; Thompson *et al.*, 2002). Además, se ha observado que las personas con DCL no son capaces de beneficiarse de los efectos positivos de la congruencia semántica para establecer asociaciones episódicas (Atienza *et al.*, 2011a), aspecto que sí ocurre tanto en jóvenes como en personas mayores sanas (Atienza *et al.*, 2011b).

Por otra parte, los individuos con DCL tienen especialmente alterada la capacidad para codificar y evocar aspectos contextuales de la memoria. Particularmente, presentan dificultades para recordar relaciones entre estímulos y/o entre un estímulo y su contexto (memoria asociativa) (Troyer *et al.*, 2008). Dado el papel fundamental que juegan diversas estructuras del LTM en el control de los mecanismos neurales que

subyacen a la memoria asociativa (Mayes *et al.*, 2007) y el deterioro de estas estructuras cerebrales en personas con DCL (Haroutunian *et al.*, 2009), no es de extrañar que ambos aspectos estén relacionados en el estadio de DCL. Esta hipótesis ha sido recientemente confirmada (Atienza *et al.*, 2011a). Concretamente, este estudio mostró que la relación entre el deterioro de la memoria asociativa y la disminución de volumen del hipocampo y de la corteza entorrinal permite discriminar entre personas mayores con DCL y controles sanos.

Evidencias recientes apuntan a que la memoria de trabajo también parece estar afectada en individuos con DCL (Gagnon & Belleville, 2011; Aretouli & Brandt, 2010, Brandt *et al.*, 2009). Gagnon & Belleville (2011) examinaron la integridad de la memoria de trabajo en el continuo envejecimiento normal-EA, mostrando que el rendimiento de este tipo de memoria disminuye significativamente a medida que avanza la enfermedad. Se ha sugerido que esta alteración podría ser en parte causada por un deterioro progresivo de los mecanismos neurales que controlan la atención (Belleville *et al.*, 2007), aunque esta hipótesis no ha sido aun evaluada experimentalmente.

2.4.3.2. Lenguaje

El lenguaje sufre alteraciones durante los diferentes estadios de la EA (Tsantali *et al.*, 2013), afectando fundamentalmente a la fluidez verbal y a la denominación en el estadio de DCL (Taler & Phillips, 2008). Las personas con DCL presentan una mayor dificultad para generar palabras, por ejemplo dentro de la categoría de animales (fluidez semántica), que palabras que empiecen por una letra determinada (fluidez fonológica) (Clark *et al.*, 2009). A pesar de que ambas tareas requieren una búsqueda estratégica y la recuperación de información de la memoria, la generación de elementos dentro de una misma categoría semántica necesita encontrar asociaciones semánticas, mientras que la generación de palabras que comiencen por una letra concreta requiere de la búsqueda de representaciones léxicas (Murphy *et al.*, 2006).

Los individuos con DCL muestran un peor rendimiento en las tareas de denominación que los controles sanos, especialmente en las categorías de nombres de objetos y personas famosas (Joubert *et al.*, 2010; Joubert *et al.*, 2008). Tanto la denominación como la fluidez verbal requieren de conceptos semánticos, por lo que ambas disfunciones podrían reflejar un deterioro de la memoria semántica en el DCL. Más concretamente, los problemas en la fluidez verbal y la anomia se han relacionado con la alteración en el procesamiento semántico de los conceptos, la integridad de la memoria de trabajo y la capacidad de control ejecutivo presente en el DCL y en la EA (Verma & Howard, 2012). Los problemas de denominación tienen su correlato anatómico en las atrofas de la parte anterior del lóbulo temporal, tanto en pacientes con EA (Domoto-Reilly *et al.*, 2012) como en individuos con DCL (Apostolova *et al.*, 2008; Frings *et al.*, 2011).

2.4.3.3. Atención y función ejecutiva

Las alteraciones de la atención y la función ejecutiva son frecuentes en personas con DCL (Traykov *et al.*, 2007; Ready *et al.*, 2003), convirtiéndose en indicadores cada vez más fiables del comienzo del deterioro de las actividades de la vida diaria (Marshall *et al.*, 2011) y de la progresión a la EA (Rapp *et al.*, 2005). Entre los aspectos de la función ejecutiva más afectados se encuentran las dificultades para planificar y resolver problemas (Brandt *et al.*, 2009), así como la pérdida de flexibilidad cognitiva (Traykov *et al.*, 2007) y autocontrol (Rainville *et al.*, 2012). Trabajos recientes han mostrado que el deterioro de la función ejecutiva en personas mayores con DCL correlaciona con una menor activación de la corteza cingulada anterior (Van Dam *et al.*, 2013). Estas personas también tienen dificultades para prestar atención a dos o más canales de información, correlacionando esta incapacidad con una desactivación de regiones de la corteza prefrontal (Dannhauser *et al.*, 2005). Las disfunciones atencionales en pacientes con EA han mostrado contribuir de forma significativa a las afectaciones de otros dominios cognitivos como la memoria (Rizzo *et al.*, 2000).

2.4.4. Alteraciones del ciclo vigilia-sueño

Las alteraciones del sueño son frecuentes en personas mayores (Boudreau, 2013; Woodward, 2012; Roepke & Ancoli-Israel, 2010), aunque su incidencia incrementa con el deterioro cognitivo que caracteriza al envejecimiento (Jausse *et al.*, 2012; Potvin *et al.*, 2012; Keage *et al.*, 2012). Más concretamente, la somnolencia diurna excesiva es un importante factor de riesgo para el deterioro cognitivo en personas mayores (Ohayon & Vecchierini, 2002). Estudios recientes han observado que las personas mayores con quejas de somnolencia presentan más deterioro cognitivo que aquellas que no informan de dicho síntoma (Jausse *et al.*, 2012). Además, una duración corta de sueño (6,5 horas o menos) correlaciona con un mayor deterioro cognitivo, mientras que las siestas diurnas han demostrado mejorar la función cognitiva (Keage *et al.*, 2012).

Los pacientes con EA presentan una exacerbación de las alteraciones del sueño que se observan durante el envejecimiento normal (para una revisión de la literatura ver Bombois *et al.*, 2010; Bliwise, 2004). En general, los estudios PSG han confirmado que los pacientes con EA muestran un aumento de la frecuencia y duración de los despertares nocturnos (Bonanni *et al.*, 2005; Moe *et al.*, 1995; Vitiello *et al.*, 1990), así como una reducción del SOL (Moe *et al.*, 1995; Vitiello *et al.*, 1990; Loewenstein *et al.*, 1982) y de la fase REM (Bonanni *et al.*, 2005; Moe *et al.*, 1995; Prinz *et al.*, 1982). Todos estos cambios resultan en una disminución del tiempo total de sueño (TTS) (Gagnon *et al.*, 2006) y en un incremento de los niveles de somnolencia diurna (Bonanni *et al.*, 2005). Estas alteraciones del sueño adquieren una mayor relevancia clínica a medida que la enfermedad progresa (Bonanni *et al.*, 2005; Moe *et al.*, 1995), aunque no existen evidencias objetivas de que precedan o no al diagnóstico de la EA.

Estudios previos han evaluado la presencia de alteraciones del sueño en individuos con DCL (Di Lulio *et al.*, 2010; Edwards *et al.*, 2009; Ellison *et al.*, 2008; Gallassi *et al.*, 2008; Geda *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2008; Lobo *et al.*, 2008; Muangpaisan *et al.*, 2008;

López *et al.*, 2005; Geda *et al.*, 2004; Forsell *et al.*, 2003; Lyketsos *et al.*, 2002). El primer trabajo en esta dirección puso de manifiesto que los problemas de sueño asociados al DCL eran más frecuentes que en personas mayores sanas, aunque no aparecían de forma tan prominente como en los pacientes con EA (Lyketsos *et al.*, 2002). Estos resultados han sido confirmados por otros estudios mostrando que la prevalencia de problemas de sueño en personas con DCL ocupa un lugar intermedio (16,7%) entre las personas mayores sanas (7,7%) y la fase leve de la EA (23,8%) (Geda *et al.*, 2004). Además, estudios longitudinales han mostrado que la mayor frecuencia de problemas de sueño en controles sanos está asociada con un incremento de la prevalencia del DCL y EA en los dos años posteriores a la evaluación (Lobo *et al.*, 2008), aunque no existen evidencias PSG que confirmen a nivel objetivo el deterioro de la calidad de sueño informada por las personas con DCL. Por lo tanto, este escenario impide determinar si los problemas de sueño asociados a las fases preclínicas de la EA se restringen al ámbito de lo subjetivo o se extienden a la fisiología cerebral, aspecto que trataremos de responder con el presente trabajo.

3. PLANTEAMIENTO, OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3. PLANTEAMIENTO, OBJETIVOS E HIPÓTESIS

3.1. Planteamiento

Las consecuencias derivadas del envejecimiento de la población se han convertido en importantes desafíos para el mantenimiento del Estado del Bienestar. La Organización Mundial de la Salud estima que la población mundial en 2050 la integrarán alrededor de dos mil millones de personas mayores de 60 años, siendo los países desarrollados los más afectados por este fenómeno (World Health Organization, 2010). Europa también se encuentra frente a esta encrucijada. La población europea de mayores de 65 años ha incrementado del 8,5% en 1960 al 13,8% en 2005, con previsiones de alcanzar el 25% en 2050. En este contexto, la promoción de hábitos saludables y actividades orientadas a la prevención y/o detección precoz de enfermedades crónicas asociadas al envejecimiento cobra una gran relevancia.

El envejecimiento *per se* ha mostrado ser el factor de riesgo más determinante para desarrollar EA, patología neurodegenerativa que se ha convertido en la causa más común de demencia en personas mayores de 65 años. Las lesiones cerebrales que caracterizan a la EA, ONF y depósitos de A β , anteceden en varias décadas a los primeros síntomas de la enfermedad (Braak *et al.*, 2011), por lo que existe una necesidad urgente de validar biomarcadores que sean sensibles a la fase preclínica de la EA, conocida como DCL, y capaces de discriminar los cambios cerebrales asociados al envejecimiento normal.

La investigación en biomarcadores del DCL ha sido extremadamente prolífica en los últimos 15 años (Yamasaki *et al.*, 2012; Song *et al.*, 2009; Fennema-Notestine *et al.*, 2009; Hampel *et al.*, 2008), aunque las características del sueño fisiológico de estos pacientes no se hayan explorado en profundidad, quizás por la escasa vinculación entre las alteraciones del sueño y los mecanismos neuropatológicos de la EA. Trabajos

recientes desarrollados con modelos animales de amiloidosis han mostrado que la privación de sueño incrementa la concentración de A β en el líquido intersticial cerebral (Kang *et al.*, 2009), y que las alteraciones del sueño fisiológico son posteriores a la aparición de las primeras placas de A β en ratones transgénicos APP-PS1 (Roh *et al.*, 2012). Este conjunto de resultados sugiere que, dado que los depósitos de A β aparecen previamente a la sintomatología de la EA, es probable que durante los años previos al diagnóstico de esta enfermedad ocurran alteraciones de la estructura del sueño que, potencialmente, pudieran ser empleadas como biomarcadores de la EA.

3.2. Objetivos

El objetivo central del presente trabajo es determinar si la estructura del sueño fisiológico y su calidad subjetiva sufren alteraciones en personas mayores con DCL. Para lograr este objetivo se ha realizado un estudio de PSG nocturno y se han tomado medidas subjetivas del sueño a un grupo de personas mayores cognitivamente intactas y a otro con DCLa.

De este objetivo general se derivan los siguientes objetivos específicos:

- Examinar si las personas mayores con DCLa muestran cambios en la estructura del sueño fisiológico respecto a las personas mayores sanas.
- Evaluar si las personas mayores con DCLa presentan más alteraciones subjetivas del sueño que los mayores sanos.
- Determinar si los cambios en la arquitectura del sueño de los individuos con DCLa se podrían predecir a partir de una serie de preguntas centradas en las alteraciones del sueño de las personas con DCLa y los pacientes con EA.

- Evaluar si los cambios en la arquitectura del sueño y en su calidad subjetiva correlacionan con el deterioro cognitivo global y de la memoria en personas mayores con DCLa.
- Examinar si las personas mayores con DCLa $\epsilon 4^+$, factor de riesgo genético más importante en la EA, presentan cambios más evidentes en la arquitectura del sueño y en su calidad subjetiva que los DCLa $\epsilon 4^-$.

3.3. Hipótesis de trabajo

Nuestro estudio se fundamente en evidencias que muestran que las lesiones que caracterizan a la EA aparecen años antes que se produzca el diagnóstico de la enfermedad, y que las alteraciones del sueño aparecen de forma contingente con estas lesiones neuropatológicas en modelos transgénicos de EA (Roh *et al.*, 2012). Estos hallazgos nos han permitido establecer las siguientes hipótesis.

3.3.1. Hipótesis I

Los cambios en el ciclo vigilia-sueño son comunes en el envejecimiento (Boudreau, 2013; Woodward, 2012; Roepke & Ancoli-Israel, 2010) y se agravan en presencia de enfermedades neurodegenerativas como la EA (Bombois *et al.*, 2010; Bliwise, 2004). Estudios previos han mostrado que los efectos de la neurodegeneración incipiente pueden observarse años antes de que se produzca el diagnóstico de EA (Markesbery, 2010; Markesbery *et al.*, 2006; Guillozet *et al.*, 2003), durante el estadio preclínico conocido como DCL (Petersen *et al.*, 1999). Sin embargo, se desconoce si las alteraciones de la estructura del sueño anteceden al diagnóstico clínico de EA, y si dichas alteraciones correlacionan con la percepción subjetiva del sueño que tienen los individuos con DCL (Lobo *et al.*, 2008; Lyketsos *et al.*, 2002).

Resultados recientes muestran que la aparición de las primeras placas de A β precede a la aparición de las alteraciones del sueño en modelos transgénicos APP-PS1 (Roh *et al.*, 2012), sugiriendo que el deterioro de la fisiología del sueño comienza años antes de que la enfermedad se instaure definitivamente y presente toda su manifestación sintomatológica. Por lo tanto, la primera de nuestras hipótesis establece que los individuos con DCLa, supuestamente en mayor riesgo de padecer la EA (Busse *et al.*, 2006), deberían presentar una estructura del sueño más alterada que las personas mayores cognitivamente intactas. Además, estas alteraciones en la arquitectura del sueño deberían venir acompañadas de una peor calidad de sueño si se compara con personas mayores sanas.

3.3.2. Hipótesis II

En las últimas décadas han aparecido evidencias que asignan al sueño un papel crítico en la formación de nuevas memorias (Peigneux *et al.*, 2004). Diferentes estudios han mostrado que los cambios cerebrales asociados a los procesos de consolidación de memoria podrían ocurrir durante diferentes fases del sueño, (para una revisión, Stickgold, 2005), aunque estos cambios podrían iniciarse igualmente en el estado de vigilia y optimizarse durante el sueño nocturno de la siguiente noche (Axmacher *et al.*, 2008). Por otra parte, son bien conocidos los efectos del insomnio y la privación de sueño sobre la función cognitiva tanto en adultos sanos como en pacientes con EA (Osorio *et al.*, 2011). Por lo tanto, nuestra segunda hipótesis establece que las personas con DCLa con mayor grado de deterioro cognitivo deberían mostrar alteraciones del sueño más evidentes que los controles sanos.

3.3.3. Hipótesis III

Las personas mayores portadores del genotipo ApoE $\epsilon 4^+$ tienen una mayor predisposición a padecer EA que los $\epsilon 4^-$ (Corder *et al.*, 1993). Evidencias previas sugieren que el genotipo ApoE $\epsilon 4$ no guarda ninguna relación con las alteraciones del sueño que sufren los pacientes con EA (Yesavage *et al.*, 2004). No obstante, no hay que olvidar que estos experimentos fueron realizados con actigrafía y, por lo tanto, no se pudo establecer con certeza los cambios en la estructura del sueño fisiológico. Además, este estudio se restringió a pacientes con EA cuyas alteraciones del sueño son ya muy pronunciadas por lo que las asociaciones con el genotipo ApoE $\epsilon 4$ podrían haber perdido su valor predictivo. De hecho, y en contraste con estos resultados, estudios recientes han encontrado que ratones transgénicos portadores del genotipo ApoE $\epsilon 4$ humano presentan una disminución significativa del SOL y de la fase REM ante condiciones de hipoxia además de una fragmentación del sueño respecto a los controles (Kaushal *et al.*, 2012), sugiriendo que la fisiología del sueño podría ser especialmente vulnerable en mamíferos portadores del genotipo ApoE $\epsilon 4^+$. Considerando este conjunto de resultados, nuestra tercera hipótesis establece que los individuos con DCLa $\epsilon 4^+$ mostrarán una estructura del sueño más afectada que aquellos DCLa que carecen de este genotipo. Este deterioro afectará de forma más evidente a la fisiología del sueño que a la calidad de sueño subjetiva.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Sujetos experimentales

En el presente estudio participaron 25 personas mayores sanas desde un punto de vista cognitivo y neurológico (grupo control) y 25 personas mayores con DCLa. Las características demográficas, clínicas y cognitivas de ambos grupos aparecen en la Tabla 2. La muestra experimental fue reclutada en el Laboratorio de Neurociencia Funcional (Universidad Pablo de Olavide, Sevilla) y en la Unidad de Demencia del Hospital Universitario Virgen del Rocío, de Sevilla. La participación en el estudio fue completamente voluntaria, pudiendo los sujetos abandonar los experimentos en cualquier momento. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado previamente a su inclusión en el estudio. Los protocolos experimentales empleados en esta investigación fueron previamente aprobados por el Comité Ético de Investigación en humanos de la Universidad Pablo de Olavide, y por el Comité de Investigación Clínico del Hospital Universitario Virgen del Rocío. Los procedimientos utilizados respetaron los principios de la Declaración de Helsinki (1975, revisados en 2000).

El diagnóstico de DCLa se basó en criterios internacionales de consenso (Petersen *et al.*, 1999):

- i) quejas de memoria corroboradas por el acompañante;
- ii) deterioro objetivo de la memoria. Para ello se utilizó la versión española de los Subtests de Memoria Lógica integrados en la Escala de Memoria de Wechsler, 3ª Edición. El subtest de Memoria Lógica para el *recuerdo inmediato* consiste en dos historias que se leen al paciente y que éste debe recordar inmediatamente después de la lectura. El subtest de Memoria Lógica para el *recuerdo diferido* consiste en recordar las mismas historias tras un intervalo de 30 minutos. Se emplearon puntuaciones de corte de 1,5

desviaciones estándar por debajo de la media para su edad. A partir de los resultados de estos dos subtests, se calculó la *tasa de olvido* que resultó de sustraer las puntuaciones del recuerdo diferido de las del recuerdo inmediato en cada participante;

- iii) puntuación global de 0,5 (demencia cuestionable) en la Escala de Demencia Clínica (CDR, siglas en terminología anglosajona) (Hughes *et al.*, 1982);
- iv) actividades de la vida diaria conservadas, evaluadas mediante la Escala para el Deterioro de las Actividades de la Vida Diaria validada en población española (Böhm *et al.*, 1998);
- v) no reunir criterios diagnósticos de demencia (Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, 4ª versión; DSM-IV).

Los criterios de inclusión para los sujetos del grupo control fueron:

- i) ausencia de un deterioro objetivo de la memoria evaluado con las mismas pruebas neuropsicológicas que se emplearon en los individuos con DCLa;
- ii) puntuación global de 0 (ausencia de demencia) en la CDR;
- iii) actividades de la vida diaria conservadas, evaluadas con la misma escala que se utilizó en los sujetos con DCLa.

Se administró el Mini Examen Cognoscitivo (*Mini-Mental State Examination* (MMSE) en terminología anglosajona) en su versión adaptada y validada en población española (Lobo *et al.*, 1979), con el objetivo de valorar la función cognitiva global en cada participante.

En todos los casos (controles y DCL) se realizó una detallada exploración neurológica con el fin de descartar enfermedades neurológicas que pudieran afectar a la estructura y/o función cerebral. Paralelamente, se adquirieron imágenes de RM cerebral para descartar lesiones anatómicas (infartos cerebrales extensos, tumor cerebral, esclerosis

del hipocampo y/o malformaciones vasculares). Aquellos individuos que presentaron isquemias relevantes (puntuaciones ≥ 2) en la sustancia blanca periventricular y/o profunda, determinado mediante la Escala de Cambios en la Sustancia Blanca Relacionados con la Edad (Fazekas *et al.*, 1987), fueron excluidos del estudio. Se descartaron igualmente causas secundarias del deterioro cognitivo mediante pruebas de laboratorio (hemograma, vitamina B12/folato y función tiroidea). La sintomatología depresiva se descartó, tanto en controles como en personas con DCLa, mediante la Escala de Depresión Geriátrica (utilizándose como criterio de exclusión puntuaciones iguales o mayores de 5) (Yesavage *et al.*, 1983).

La presencia (o historial clínico previo) de enfermedades neurológicas (infarto cerebral, epilepsia, traumatismo cráneo-encefálico), psiquiátricas (depresión, psicosis, historia de consumo crónico de alcohol y/o otras sustancias que afecten al sistema nervioso) o de otra índole (renal, hepática, pulmonar y/o endocrina), así como el uso de medicación que afectara explícitamente a la función cognitiva y/o al ciclo vigilia-sueño (hipnóticos, benzodiacepinas, antidepresivos tricíclicos, inhibidores de la recaptación de serotonina, inhibidores de la colinesterasa, etc.) fueron también consideradas causas de exclusión. Finalmente, ninguno de los participantes presentó trastornos respiratorios y/o motores durante el sueño, o ritmos circadianos alterados como consecuencia de turnos de trabajo nocturnos, etc., aspecto que fue corroborado por el acompañante (pareja o familiar). Se administró a cada sujeto la Escala de Somnolencia de Epworth, versión adaptada a población española (Ferrer *et al.*, 1999), para determinar el nivel subjetivo de somnolencia diurna.

4.2. Determinación de los polimorfismos genéticos del gen ApoE

Cada participante acudió a la Unidad de Biomarcadores del Laboratorio de Neurociencia Funcional (Universidad Pablo de Olavide) en ayunas para proceder a la toma de muestras de sangre en las semanas previas al registro de PSG. A partir de

estas muestras, se extrajo el ADN mediante el procedimiento de "salting-out" (Miller *et al.*, 1988). La concentración y pureza de cada muestra de ADN fue obtenida mediante espectrofotometría (NanoDrop 2000®, Thermo Fisher Scientific), mientras que la integridad del ADN se determinó mediante electroforesis (Mupid-One®) con geles de agarosa. El ADN resultante se almacenó en viales de 1,5 mL y se congeló a -80°C.

Los diferentes polimorfismos del gen ApoE se obtuvieron mediante PCR (Step-One Plus, Applied Biosystem) con sondas TaqMan® (Applied Biosystem) específicas para cada SNP de interés (rs429358: sonda TaqMan C_3084793_20; rs7412: sonda TaqMan C_904973_10). Todas las reacciones se amplificaron por duplicado siguiendo las instrucciones proporcionadas con cada ensayo TaqMan.

4.3. Registros polisomnográficos

Los registros de PSG nocturna se realizaron en la Unidad de Neurofisiología del Laboratorio de Neurociencia Funcional de la Universidad Pablo de Olavide, y fueron supervisados por personal especializado a través de un circuito cerrado de televisión.

Los participantes recibieron instrucciones de realizar una rutina normal de actividades durante la semana que precedió al estudio. También se les recomendó que no ingirieran bebidas alcohólicas durante las 24 horas previas al experimento ni durmieran siesta el día del estudio. Cada participante llegó al laboratorio alrededor de las 17:00h para la colocación de los electrodos. La hora de comienzo del registro PSG se adaptó a la hora habitual de acostarse de cada sujeto.

El protocolo de PSG incluyó 59 electrodos de electroencefalografía (EEG) (Fp1, Fp2, AF7, AF3, AFz, AF4, AF8, F7, F5, F3, F1, Fz, F2, F4, F6, F8, FT7, FC5, FC3, FC1, FCz, FC2, FC4, FC6, FT8, T7, C5, C3, C1, Cz, C2, C4, C6, T8, TP7, CP5, CP3, CP1, CPz, CP2, CP4, CP6, TP8, P7, P5, P3, P1, Pz, P2, P4, P6, P8, PO7, PO3, POz, PO4, PO8, O1 y O2), 4 electrodos de electrooculografía (EOG) para registrar movimientos

oculares horizontales y verticales, y 2 electrodos de electromiografía (EMG) colocados en los músculos submentonianos para registrar la actividad muscular. Todos los electrodos se referenciaron al promedio de la actividad registrada en ambos mastoides. La colocación de los electrodos para registrar la actividad EEG se realizó siguiendo las coordenadas del Sistema Internacional 10-20 (Jasper, 1958) (Figura 5).

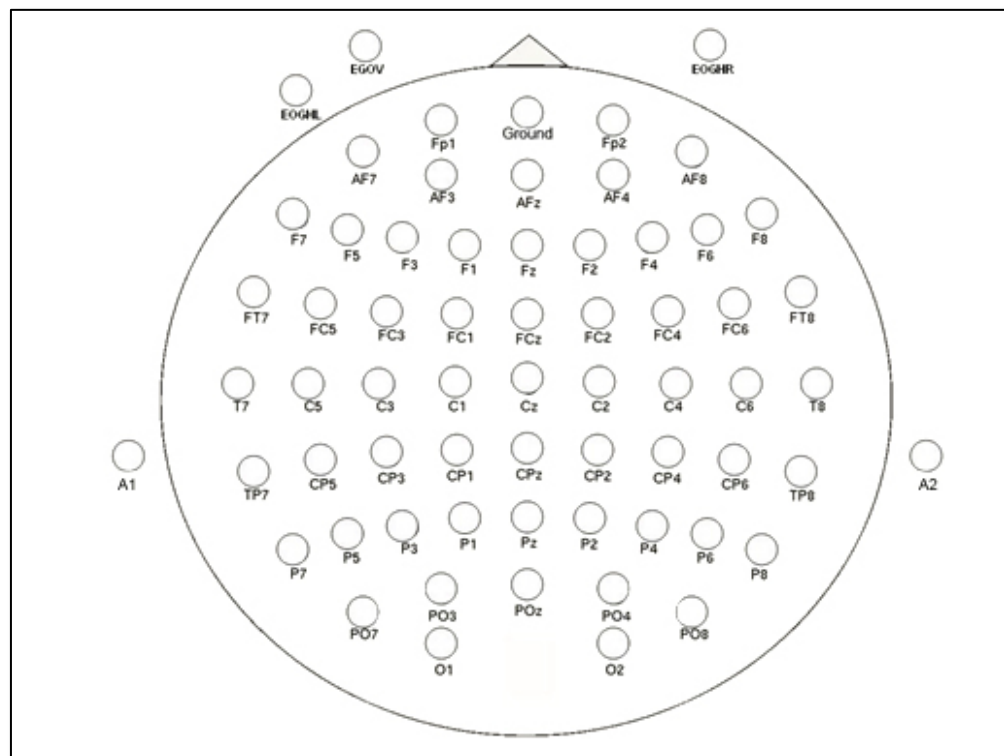


Figura 5. Montaje de electrodos utilizado en el registro de PSG.

Las medidas electrofisiológicas se realizaron con electrodos de disco de 10 mm de diámetro con una aleación de oro y longitud de cable de 152 cm (Grass, Inc., referencia FS-E5GH-60). Previamente a la colocación de cada electrodo, se frotó la zona de interés con un bastoncillo empapado en crema abrasiva con el objetivo de eliminar las células muertas y la grasa de la piel. Posteriormente, la copa de cada electrodo se rellenó con una pasta electrolítica conductora (Ten20™, Weaver) para mejorar la

conductancia entre la piel y el electrodo. Los electrodos para registrar el EEG se fijaron al cuero cabelludo con colodión (solución al 4%, Panreac, referencia 141278.0314), mientras que los electrodos de poligrafía (EOG y EMG) fueron adheridos a la piel de la cara con cinta quirúrgica extra-adhesiva (Fixomull®, BSN medical GmbH). Para acelerar el proceso de fijación y secado del colodión, se aplicó aire comprimido a cada electrodo colocado sobre el cuero cabelludo. La impedancia de los electrodos siempre se mantuvo por debajo de 5 k Ω .

Las señales electrofisiológicas de cada registro PSG fueron amplificadas (BrainAmp MR, Brain Vision®), filtradas (filtro de paso de banda 0.1-100 Hz), digitalizadas (250 Hz, resolución 16-bits) y almacenadas para su posterior análisis. La Figura 6 muestra una visión general del protocolo de registro PSG empleado en el presente estudio.

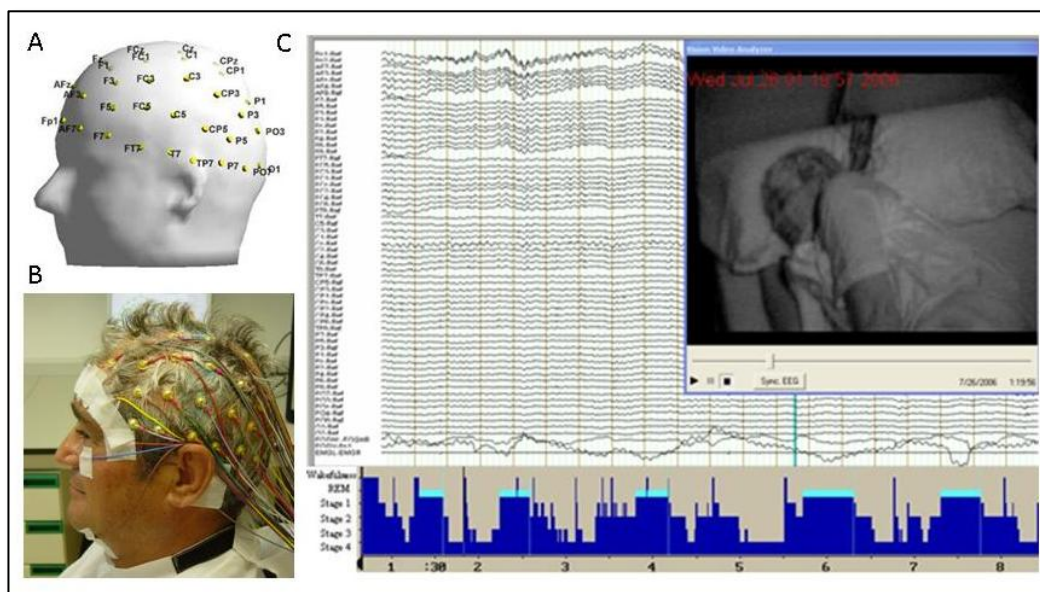


Figura 6. Protocolo de registro PSG. **A.** Digitalización del montaje de electrodos EEG en un modelo de cabeza. **B.** Montaje de electrodos en un sujeto del estudio. Nótese que los electrodos colocados en la cara con cinta quirúrgica corresponden al montaje de EOG (electrooculografía de movimientos oculares verticales y horizontales) y al de EMG (electromiografía de musculatura submentoniana). **C.** Época de registro mostrando la adquisición simultánea de EEG y video, junto con el hipnograma (panel inferior) que refleja la arquitectura del sueño del sujeto.

4.4. Evaluación subjetiva de la calidad del sueño

Previamente al comienzo del protocolo de registro PSG, a cada participante se le administró un cuestionario compuesto por 5 preguntas relacionadas con la calidad del sueño en los últimos meses. Estas cinco preguntas se centraron específicamente en las alteraciones del sueño que caracterizan a personas mayores con DCL y a pacientes con EA, es decir, incremento de la latencia al comienzo del sueño (Most *et al.*, 2012), duración más corta del sueño (Prinz *et al.*, 1982), mayor número de despertares y arousals durante el sueño (Westerberg *et al.*, 2012) y peor calidad del sueño (Vitiello *et al.*, 1989). La Tabla 1 muestra las cinco preguntas que integraron el citado cuestionario.

Tabla 1. Cuestionario de sueño.

1. ¿Cuánto tiempo tarda habitualmente en quedarse dormido? _____ min.
2. ¿Cuánto tiempo duerme por la noche? _____ h.
3. ¿Cuántas veces se despierta por la noche? _____ veces.
4. ¿Tiene dificultades para volverse a dormir después de despertarse?
Habitualmente (3 o más veces en semana)
Algunas veces (1 o 2 veces en semana)
Pocas veces (alguna vez al mes)
Nunca
5. Puntúe su calidad de sueño entre 0 y 10 (0 muy mala, 10 excelente) _____

4.5. Clasificación de las fases del sueño

La clasificación de las diferentes fases del sueño en el registro PSG se realizó manualmente sobre épocas de EEG de 20 segundos (filtro paso de banda de 0,5-30 Hz) siguiendo los criterios estandarizados que se exponen a continuación (Rechtschaffen & Kales, 1968):

- Vigilia relajada con ojos cerrados: Presencia de ritmo alfa continuo con máxima amplitud sobre regiones de la corteza parieto-occipital. Tono muscular relativamente alto y ausencia de movimientos oculares.
- Fase 1: Transición entre la vigilia y el sueño ligero. Presencia intermitente de actividad alfa en menos del 50% de la época junto con movimientos oculares lentos y una ligera reducción del tono muscular respecto al de vigilia.
- Fase 2: Presencia de complejos K y husos de sueño. Puede aparecer hasta un 20% de ondas lentas (ritmo delta, 0,5-3 Hz) en la época. Ausencia de actividad ocular y tono muscular bajo.
- Fase 3: Presencia de ondas lentas con amplitudes superiores a 75 μ V en más del 20% y menos del 50% de la época. Pueden también aparecer complejos K y husos de sueño de forma esporádica. Ausencia de actividad ocular y tono muscular bajo.
- Fase 4: Presencia de ondas lentas en más del 50% de la época. Las demás características son similares a las de la fase 3.
- Fase REM: Presencia de actividad EEG de baja amplitud y frecuencias entremezcladas (theta-alfa-beta) similar a la observada en el estado de vigilia activa con ojos abiertos. Este patrón de actividad cerebral se acompaña

El nivel de fragmentación del sueño se evaluó mediante la cuantificación de los *arousals* en el registro PSG, siguiendo criterios de consenso (American Sleep Disorder Association, 1992). Un arousal se definió como un cambio abrupto en el EEG, que puede incluir actividad alfa (7,5-12 Hz), theta (4-7 Hz) o frecuencias superiores a 16 Hz. Para ello se empleó el *índice de arousal* (IA) que resulta de dividir el número total de arousals en una fase del sueño entre la duración de esa fase del sueño (en horas).

4.6. Descriptores de la estructura del sueño fisiológico

A partir de la clasificación de fases del sueño derivada del registro PSG, se extrajeron una serie de descriptores que reflejan de forma cuantitativa la estructura del sueño en cada participante:

- TTS (tiempo total de sueño): Tiempo transcurrido en cualquier fase del sueño (en minutos).
- Porcentaje de SOL: Porcentaje de tiempo transcurrido en SOL (fases 3 y 4 del sueño) durante el TTS.
- Porcentaje de fase REM: Porcentaje de tiempo transcurrido en fase REM durante el TTS.
- Vigilia intra-sueño: Tiempo transcurrido en vigilia durante el TTS (en minutos).
- IA en SOL: Este índice resulta de dividir el número de arousals durante el SOL entre el tiempo (en horas) transcurrido en SOL.
- IA en fase REM: Este índice resulta de dividir el número de arousals durante la fase REM entre el tiempo (en horas) transcurrido en fase REM.

4.7. Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS v.15 (SPSS Inc., Chicago, IL). Las variables que no mostraron una distribución normal fueron transformadas a logaritmo (\log_{10}) para conseguir dicho ajuste y, de esta forma, poder aplicar pruebas estadísticas paramétricas. Todos los análisis estadísticos se realizaron con un intervalo de confianza del 95% que corresponde a valores de $p < 0,05$.

4.7.1. Variables demográficas y cognitivas

Las diferencias entre grupos (controles vs DCLa; DCLa $\epsilon 4^-$ vs DCLa $\epsilon 4^+$) en cuanto a edad y nivel educativo se evaluaron mediante la prueba *T* de Student para muestras independientes, mientras que las diferencias de género, al tratarse de una variable categórica, se evaluaron mediante la prueba chi-cuadrado (χ^2).

Las diferencias entre grupos para cada variable cognitiva (MMSE, recuerdo inmediato, recuerdo demorado y tasa de olvido) se evaluaron mediante la prueba *T* de Student para muestras independientes. Se aplicó el procedimiento de Sidak-Bonferroni para corregir el número de falsos positivos derivados de las múltiples comparaciones estadísticas.

4.7.2. Estructura del sueño fisiológico

Para evaluar cambios en la arquitectura del sueño al comparar los diferentes grupos, se utilizó un análisis de la covarianza (ANCOVA) que incluyó el factor grupo (controles vs DCLa ó DCLa $\epsilon 4^-$ vs DCLa $\epsilon 4^+$) como variable independiente inter-sujeto, y la edad y el género como covariables. Las variables dependientes fueron los porcentajes de cada fase del sueño (SOL y REM) y el TTS.

Los niveles de fragmentación de SOL y REM se determinaron mediante el IA. Para evaluar las diferencias entre grupos en la densidad de arousals y en el porcentaje de vigilia intra-sueño, se aplicó el mismo diseño estadístico.

4.7.3. Calidad subjetiva del sueño

Las diferencias entre grupos en cuanto a la calidad subjetiva del sueño también se evaluaron mediante un MANCOVA que incluyó el factor grupo (controles vs DCLa ó DCLa $\epsilon 4^-$ vs DCLa $\epsilon 4^+$) como variable independiente inter-sujeto, y la edad y el género como covariables. Este análisis incluyó 5 variables dependientes que se

correspondieron con las respuestas a cada uno de los 5 ítems del cuestionario de sueño empleado en el presente estudio (ver Tabla 1).

Asimismo se evaluaron las diferencias entre grupos en los niveles subjetivos de somnolencia diurna que se obtuvieron con la Escala de Somnolencia de Epworth. Estas comparaciones estadísticas se realizaron mediante la prueba *T* de Student para muestras independientes.

4.7.4. Relación entre la estructura del sueño fisiológico y la calidad subjetiva del sueño

La relación entre la estructura del sueño fisiológico y la percepción subjetiva de la calidad del sueño fue estudiada mediante un análisis de regresión lineal múltiple, considerando en estas correlaciones solo aquellos descriptores de la estructura del sueño fisiológico y de la calidad del sueño que mostraron un alteraciones significativas en los individuos con DCLa. Por lo tanto, este análisis permitió correlacionar cada descriptor significativo de la estructura del sueño con cada descriptor significativo de la percepción subjetiva de la calidad del sueño para cada grupo de forma independiente. Si las correlaciones alcanzaban la significación en alguno de los dos grupos, se procedía a evaluar las diferencias de grupo en los coeficientes de regresión (controles vs DCLa ó DCLa $\epsilon 4^-$ vs DCLa $\epsilon 4^+$). En todos estos análisis se evaluó la influencia del género de forma independiente y se incluyó la edad como covariable en el modelo estadístico.

4.7.5. Relación entre sueño (fisiológico y calidad subjetiva) y función cognitiva

Con el objetivo de determinar si la arquitectura del sueño de cada grupo (controles, DCLa, DCLa $\epsilon 4^-$, DCLa $\epsilon 4^+$) estaba relacionada con la función cognitiva, realizamos un análisis de regresión lineal múltiple dirigido a correlacionar cada descriptor de la estructura del sueño (% SOL, % REM, vigilia intra-sueño, IA SOL, IA REM) con las

puntuaciones obtenidas en cada prueba cognitiva (MMSE, recuerdo inmediato, recuerdo demorado y tasa de olvido) en cada grupo de forma independiente. Solo en el caso de obtener correlaciones significativas en alguno de los grupos, se comparaban los coeficientes de regresión entre ambos grupos (controles vs DCLa ó DCLa $\epsilon 4^-$ vs DCLa $\epsilon 4^+$). En todos estos análisis se evaluó la influencia del género de forma independiente y se incluyó la edad como covariable en el modelo estadístico.

Una aproximación idéntica se utilizó para evaluar si la calidad subjetiva del sueño en cada grupo estaba relacionada con la función cognitiva.

4.7.6. Comparación entre estimación subjetiva del sueño y PSG

Finalmente evaluamos si la percepción errónea del sueño caracteriza a los individuos en alto riesgo de desarrollar EA o por el contrario es una particularidad del envejecimiento normal. Para ello realizamos dos ANCOVAs de medidas repetidas. Las variables de latencia de sueño y TTS (subjetiva vs objetiva) se incluyeron como factores intra-sujetos, el grupo (controles vs DCLa ó DCLa $\epsilon 4^-$ vs DCLa $\epsilon 4^+$) como factor inter-grupo, y la edad y el género como covariables.

5. RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1. Variables demográficas y cognitivas

La Tabla 2 contiene las características demográficas y cognitivas de la muestra del estudio. Ambos grupos (controles y DCLa) fueron similares en cuanto a características demográficas. Sin embargo, la edad de los individuos con DCLa $\epsilon 4^+$ fue significativamente mayor que la de los DCLa $\epsilon 4^-$ ($p < 0,01$). En cualquiera de los casos, y para evitar cualquier efecto de la edad y/o del género sobre la arquitectura y/o calidad del sueño, estas dos variables fueron introducidas como covariables en el modelo lineal general.

Solo 3 de los controles fueron $\epsilon 4^+$, representando el 12% del grupo control. Sin embargo, 11 de los 25 casos fueron $\epsilon 4^+$ en los individuos con DCLa (todos ellos heterocigotos), alcanzando el 44% de los DCLa. Estos resultados indican que el genotipo ApoE $\epsilon 4$ fue 3,6 veces más frecuente en personas mayores con DCLa que en controles. En el caso de los 14 DCLa $\epsilon 4^-$ restantes, 12 de ellos presentaron el genotipo $\epsilon 3/\epsilon 3$ mientras que 2 mostraron el genotipo $\epsilon 2/\epsilon 3$.

Las puntuaciones en las diferentes pruebas cognitivas fueron significativamente más bajas en el grupo con DCLa que en los controles. Más concretamente, los individuos con DCLa mostraron un mayor deterioro cognitivo global, tal como reflejan las puntuaciones obtenidas en el MMSE ($p < 0,02$). También presentaron un rendimiento más bajo en pruebas de memoria inmediata ($p < 10^{-6}$) y demorada ($p < 10^{-8}$), así como en la tasa de olvido ($p < 0,006$). La afectación de la memoria se volvió más pronunciada en los sujetos con DCLa $\epsilon 4^+$, tal como revelan las puntuaciones en las pruebas de memoria inmediata ($p < 0,008$) y demorada ($p < 0,002$). Sin embargo, la tasa de olvido y las puntuaciones en el MMSE no difirieron estadísticamente entre DCLa portadores y no portadores del genotipo ApoE $\epsilon 4$.

Tabla 2. Perfil demográfico y cognitivo de la muestra del estudio.

	CN (n = 25)	DCLa (n = 25)	<i>P</i> <	DCLa $\epsilon 4^-$ (n = 14)	DCLa $\epsilon 4^+$ (n = 11)	<i>P</i> <
Edad	67,1 ± 5,3	70,5 ± 6,8	0,06	67,4 ± 6,9	74,4 ± 4,5	0,01
Género (F/M)	13 / 12	7 / 18	0,08	3 / 11	4 / 7	0,4
Años escolarización	8,5 ± 2,6	9,5 ± 5,3	0,4	8,0 ± 5,1	11,4 ± 5,1	0,1
MMSE	28,1 ± 1,3	26,7 ± 2,4	0,02	27,3 ± 2,4	26,0 ± 2,5	0,2
Memoria inmediata	13,9 ± 2,9	9,0 ± 2,9	10⁻⁶	10,3 ± 2,9	7,4 ± 1,9	0,008
Memoria demorada	13,0 ± 2,9	6,1 ± 3,9	10⁻⁸	8,1 ± 3,6	3,6 ± 2,6	0,002
Tasa de olvido	0,8 ± 1,5	2,8 ± 3	0,006	2,2 ± 3,4	3,7 ± 2,3	0,2

Los resultados muestran la media ± desviación estándar. F / M: femenino / masculino. CN: Control; DCL: deterioro cognitivo leve; $\epsilon 4^-$: no portador del alelo $\epsilon 4$; $\epsilon 4^+$: portador del alelo $\epsilon 4$. MMSE: Mini Examen Cognoscitivo; CDR: Escala de Demencia Clínica, donde 0 y 0,5 reflejan ausencia de demencia y demencia probable, respectivamente. Los resultados significativos aparecen marcados en negrita

5.2. Estructura del sueño fisiológico

La Tabla 3 muestra información descriptiva sobre los diferentes aspectos de la arquitectura del sueño y la vigilia intra-sueño (VIS) en cada grupo de participantes. Los resultados significativos se ilustran en la Figura 7.

La arquitectura del sueño fue significativamente diferente al comparar controles sanos con DCLa (Pillai's trace, $F_{6,42}=3,2$, $p<0,01$). Más concretamente, los individuos con DCLa mostraron una reducción significativa del porcentaje de fase REM ($F_{1,47}=8,1$, $p<0,007$). Además, las personas mayores con DCLa presentaron un incremento de la densidad de arousals que durante el SOL ($F_{1,47}=9,8$, $p<0,003$).

Aunque el efecto de grupo no alcanzó la significación al comparar la estructura del sueño entre DCLa portadores y no portadores del genotipo ApoE $\epsilon 4$, los análisis *post hoc* mostraron una disminución significativa del porcentaje de fase REM en los DCLa $\epsilon 4^+$ ($p < 0,04$) (Figura 7). La presencia del genotipo ApoE $\epsilon 4$ en personas con DCLa no tuvo ninguna influencia sobre la fragmentación del SOL (Tabla 3).

Tabla 3. Descriptores de la arquitectura del sueño.

	CN (n = 25)	DCLa (n = 25)	<i>P</i> <	DCLa $\epsilon 4^-$ (n = 14)	DCLa $\epsilon 4^+$ (n = 11)	<i>P</i> <
Estructura del sueño						
TTS (min.)	397,9 ± 30,1	369,8 ± 53,8	0,2	375,8 ± 34,2	362 ± 72,9	0,6
SOL (%)	24,0 ± 6,9	22,0 ± 11,7	0,7	21,4 ± 7,1	22,8 ± 16,2	0,8
REM (%)	14,7 ± 3,7	10,1 ± 5,4	0,007	12,3 ± 4,3	7,4 ± 5,5	0,04
Vigilia durante el sueño						
VIS (%)	12,8 ± 5,7	18,0 ± 11,4	0,2	16,4 ± 6,6	19,9 ± 15,7	0,6
IA SOL	0,09 ± 0,11	0,19 ± 0,10	0,01	0,20 ± 0,11	0,17 ± 0,08	0,5
IA REM	0,17 ± 0,13	0,16 ± 0,14	0,9	0,17 ± 0,16	0,14 ± 0,12	0,3

Los resultados muestran la media ± desviación estándar. F / M: femenino / masculino. CN: Control; DCL: deterioro cognitivo leve; $\epsilon 4^-$: no portador del alelo $\epsilon 4$; $\epsilon 4^+$: portador del alelo $\epsilon 4$. TTS: Tiempo Total de sueño. SOL: Sueño de ondas lentas. REM: Rapid eye movement (fase REM). VIS (%): Porcentaje de vigilia intra-sueño. IA: Índice de arousal. Los resultados significativos aparecen marcados en negrita.

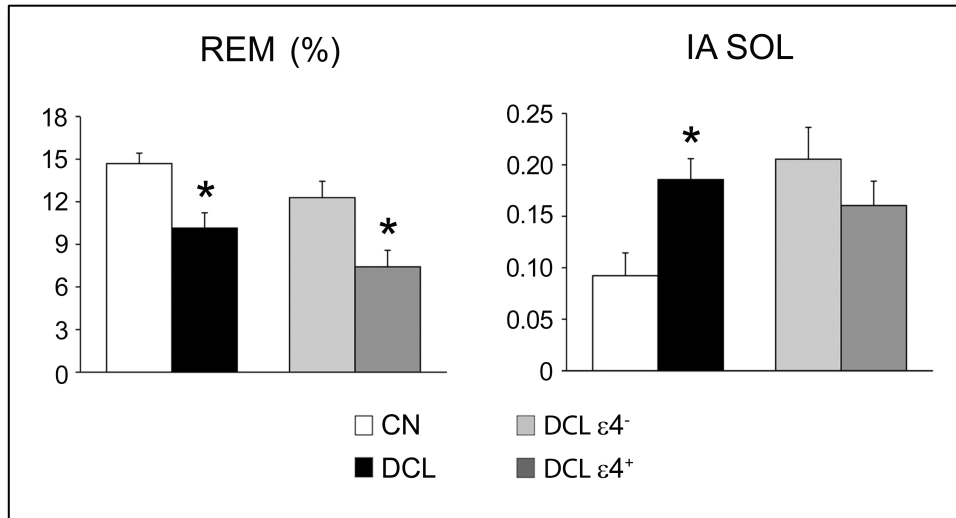


Figura 7. Cambios significativos en la estructura y fragmentación del sueño en los diferentes grupos utilizados en el estudio. CN: Control; DCL: deterioro cognitivo leve; $\epsilon 4^-$: no portador del alelo $\epsilon 4$; $\epsilon 4^+$: portador del alelo $\epsilon 4$. REM: REM: Rapid eye movement (% fase REM); IA SOL: índice de arousal en el sueño de ondas lentas. Las diferencias significativas entre los grupos ($p < 0,05$) se han marcado con un asterisco (*).

5.3. Calidad subjetiva del sueño

La Tabla 4 incluye las características subjetivas del sueño para cada grupo de sujetos. Esta información se obtuvo a partir del cuestionario diseñado a tal efecto (Tabla 1). Las personas mayores con DCLa informaron dormir peor que los controles sanos (Pillai's trace, $F_{5,42}=5,37$, $p < 0,001$). En concreto, los individuos con DCLa perciben que tardan más tiempo en conciliar el sueño ($F_{1,46}=3,92$, $p < 0,05$), duermen menos ($F_{1,46}=6,02$, $p < 0,01$), se despiertan más frecuentemente en la noche ($F_{1,46}=6,97$, $p < 0,01$), tienen más dificultad para volver a dormirse cuando se despiertan ($F_{1,46}=14,34$, $p < 0,0004$), y tienen una peor calidad subjetiva del sueño ($F_{1,46}=10,08$, $p < 0,003$), en comparación con el grupo de controles sanos. La calidad subjetiva del sueño no difirió en ninguno de sus parámetros al comparar DCLa $\epsilon 4^-$ y DCLa $\epsilon 4^+$ (Tabla 4).

Los niveles subjetivos de somnolencia diurna, derivados de la aplicación de la ESS tampoco difirieron estadísticamente al comparar los diferentes grupos (controles vs DCLa; DCLa $\epsilon 4^-$ vs DCLa $\epsilon 4^+$) (Tabla 4).

Tabla 4. Calidad subjetiva del sueño.

	CN (n = 25)	DCLa (n = 25)	<i>P</i> <	DCLa $\epsilon 4^-$ (n = 14)	DCLa $\epsilon 4^+$ (n = 11)	<i>P</i> <
Latencia de sueño (min.)	19,2 ± 17,1	34,3 ± 28,13	0,05	29,5 ± 22	40,5 ± 33,7	0,7
Tiempo total sueño (h.)	6,4 ± 0,74	5,94 ± 1,25	0,01	5,78 ± 1,19	6,15 ± 1,3	0,7
Despertares nocturnos	1,22 ± 1,3	2,36 ± 1,53	0,01	2,35 ± 1,75	2,36 ± 1,2	0,6
Dificultad para dormirse después de un despertar nocturno	1,6 ± 0,63	2,48 ± 1,17	0,0004	2,35 ± 1,1	2,63 ± 1,2	0,7
Calidad de sueño (0-10)	7,56 ± 1,16	6,48 ± 1,7	0,003	6,78 ± 1,77	6,1 ± 1,5	0,1
ESS	5 ± 2,4	5,4 ± 3,5	0,6	5,1 ± 2,6	5,8 ± 4,6	0,5

Los resultados muestran la media ± desviación estándar. CN: Control; DCL: deterioro cognitivo leve; $\epsilon 4^-$: no portador del alelo $\epsilon 4$; $\epsilon 4^+$: portador del alelo $\epsilon 4$. min: minutos; h: horas. ESS: Epworth Sleepiness Scale. Los resultados significativos aparecen marcados en negrita.

5.4. Relación entre la estructura del sueño fisiológico y la calidad subjetiva del sueño

Con el objetivo de evaluar si los cambios significativos del sueño fisiológico están relacionados con la percepción subjetiva del sueño, se correlacionaron los descriptores de la estructura del sueño con las respuestas a los ítems del cuestionario en cada grupo por separado. Los análisis de regresión múltiple confirmaron la existencia de

asociaciones significativas entre la densidad de arousals en el SOL y la calidad subjetiva de sueño en controles sanos ($F_{7,24}=3,1$, $p<0,02$), pero no en sujetos con DCLa. Los análisis *post hoc* revelaron que las respuestas a las preguntas “frecuencia de despertares durante el sueño” ($r=0,37$, $p<0,04$) y “dificultad para conciliar el sueño después de esos despertares” ($r=0,4$, $p<0,03$) fueron las que específicamente mostraron asociaciones significativas con los niveles de fragmentación del SOL que presentaban los controles sanos.

La Figura 8 muestra las diferencias observadas al comparar los coeficientes de regresión obtenidos en los dos grupos para cada uno de los ítems mencionados anteriormente. Sólo la correlación entre la “dificultad para conciliar el sueño después de los despertares nocturnos” y la densidad de arousals en el SOL fue capaz de distinguir entre controles y mayores con DCLa ($F_{5,49}=4,32$, $p<0,003$; beta para la interacción = 0,64, $p<0,03$). La correlación entre la “frecuencia de despertares nocturnos” y la densidad de arousals en el SOL fue mayor en el grupo control que en el grupo con DCLa, pero esta diferencia no alcanzó la significación estadística ($p<0,07$).

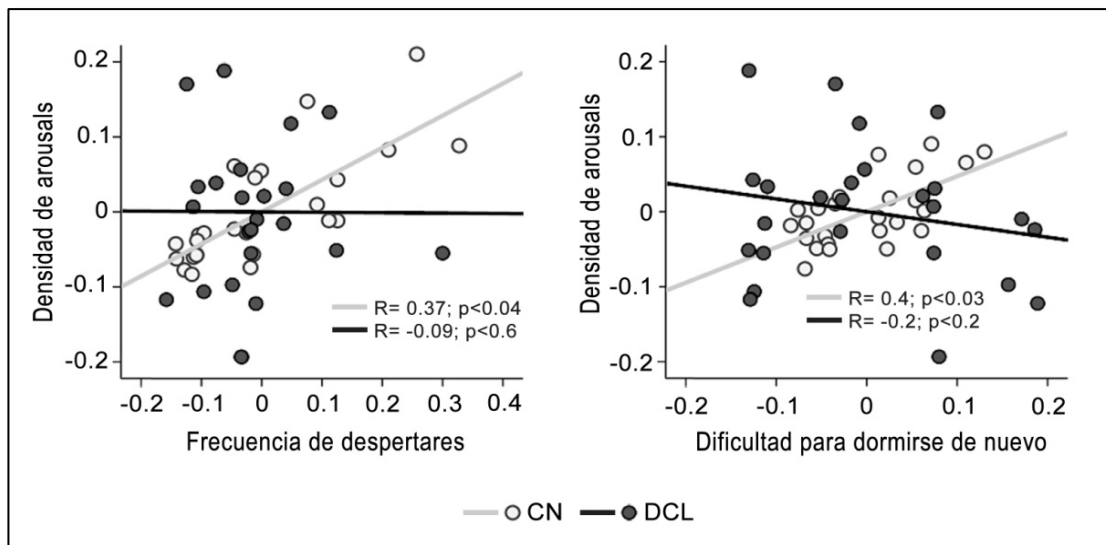


Figura 8. Gráficas de regresión que muestran las relaciones entre la densidad de arousals en SOL y la frecuencia de despertares o la dificultad para dormirse después de un despertar. CN: control; DCL: deterioro cognitivo leve.

5.5. Relación entre sueño (fisiológico y calidad subjetiva) y función cognitiva

Los análisis de regresión lineal no mostraron relaciones significativas entre los diferentes parámetros de sueño (fisiológico y subjetivo) y las pruebas cognitivas administradas (MMSE, memoria inmediata, memoria demorada y tasa de olvido) ni en el grupo control ni en el grupo de mayores con DCLa.

De la misma forma, tampoco se encontraron relaciones significativas entre la calidad subjetiva de sueño y las puntuaciones en las pruebas cognitivas en los grupos DCLa $\epsilon 4^-$ y DCLa $\epsilon 4^+$. Sin embargo, el grupo con DCLa $\epsilon 4^-$ mostró correlaciones positivas entre el porcentaje de fase REM y el rendimiento en la prueba de memoria inmediata ($F_{2,11}=6,3$, $p<0,01$; $r=0,45$, $p<0,01$). Tal como se observa en la Figura 9, esta correlación fue significativamente diferente a la que mostró el grupo DCLa $\epsilon 4^+$ ($F_{4,20}=7,1$, $p<0,001$, beta para la interacción = 1,3, $p<0,006$).

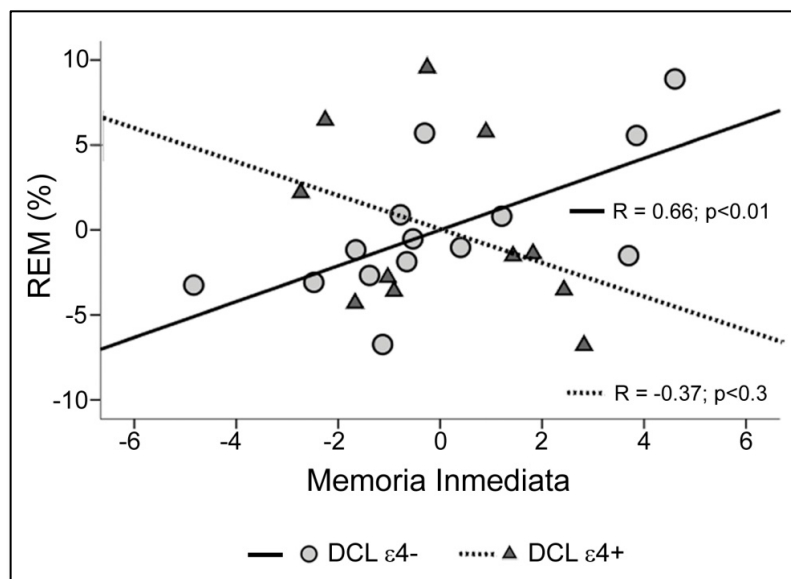


Figura 9. Gráfica de regresión que muestra las relaciones entre el porcentaje de fase REM y las puntuaciones en la prueba de memoria inmediata en los casos con DCL $\epsilon 4^-$ (círculos) y DCL $\epsilon 4^+$ (triángulos). La pendiente de regresión se estableció con una línea sólida para los DCL $\epsilon 4^-$ y con una línea punteada para los DCL $\epsilon 4^+$.

5.6. Comparación entre estimación subjetiva del sueño y PSG

La Figura 10 ilustra las diferencias de grupo entre la estimación objetiva (PSG) y subjetiva de la latencia al comienzo del sueño y el tiempo total de sueño.

Los análisis mostraron que, aunque el efecto principal del grupo no alcanzó la significación ($F_{1,46}=3,5$, $p<0,07$), los contrastes univariados revelaron que las personas mayores con DCLa sobreestiman el tiempo que tardan en conciliar el sueño ($F_{1,46}=9,3$, $p<0,004$). Más concretamente, los sujetos con DCLa muestran estimaciones subjetivas ($34,3 \pm 4,8$ min.) por encima de las proporcionadas por el registro PSG ($14,7 \pm 1,5$ min.). Por el contrario, la estimación subjetiva de los controles ($19,2 \pm 4,7$ min.) es muy similar a la extraída del registro PSG ($11,3 \pm 1,5$ min.). La presencia del alelo $\epsilon 4$ en pacientes con DCLa no ejerció ninguna influencia sobre la percepción del sueño.

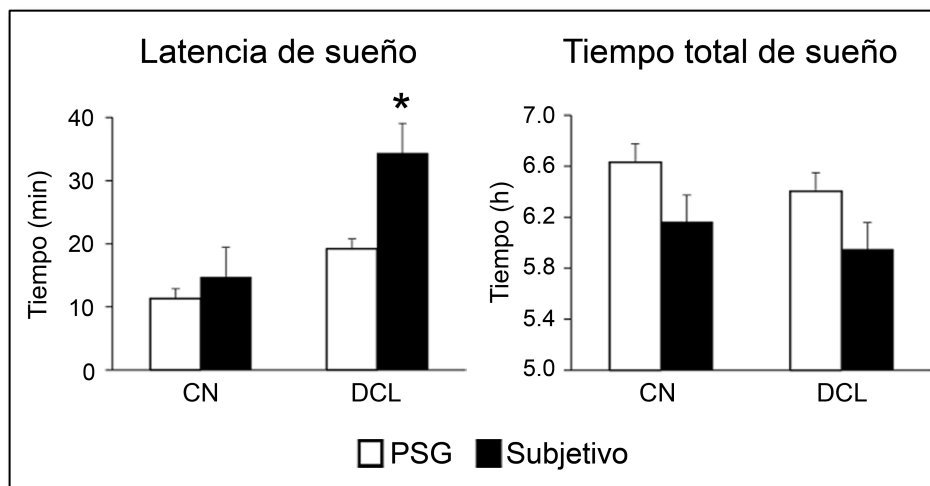


Figura 10. Diferencias entre controles e individuos con DCL en cuanto a la estimación objetiva (PSG) y subjetiva de la latencia de sueño (panel de la izquierda) y el tiempo total de sueño (panel de la derecha). CN: control; DCL: deterioro cognitivo leve; PSG: polisomnografía; min: minutos; h: horas.

6. DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

El objetivo principal del presente trabajo fue determinar si tanto la arquitectura del sueño fisiológico como la calidad de sueño subjetiva muestran alteraciones en personas mayores con DCLa. Otro de nuestros objetivos consistió en estudiar la relación entre estas alteraciones del sueño y el deterioro de la función cognitiva en personas mayores en alto riesgo de desarrollar la EA. También exploramos si estos problemas de sueño asociados al DCLa se ven agravados por la presencia del genotipo ApoE $\epsilon 4$.

Nuestros resultados revelaron que la arquitectura del sueño está significativamente alterada en sujetos con DCLa, en términos de una mayor fragmentación del SOL y una menor duración del sueño REM, que fue más acentuada en los individuos con DCLa $\epsilon 4^+$. Sin embargo, el acortamiento del sueño REM correlacionó significativamente con una peor ejecución en la tarea de memoria inmediata solo en los DCLa $\epsilon 4^-$ (Hita-Yáñez *et al.*, 2012). También observamos que los controles son capaces de predecir el nivel de fragmentación del SOL a partir de valoraciones subjetivas, resultado que no se extendió a los mayores con DCLa. Por último, los individuos con DCLa sobreestimaron la latencia al comienzo del sueño en comparación con los mayores sanos (Hita-Yáñez *et al.*, 2013).

En conjunto, estos resultados sugieren que la integridad de los mecanismos cerebrales que controlan y mantienen el ciclo vigilia-sueño está significativamente alterada en personas mayores con DCLa, síndrome conocido como la fase prodrómica de la EA (Gauthier *et al.*, 2006; Winblad *et al.*, 2004; Petersen *et al.*, 1999). Esta afectación se extiende a la calidad de sueño subjetiva, lo cual podría ser utilizado en las consultas de atención primaria como un indicador de riesgo de los procesos de neurodegeneración incipiente. De confirmarse que la presencia de alteraciones del sueño en personas mayores con DCLa correlaciona con otros marcadores clásicos de neurodegeneración

(p.e., concentración de A β o atrofas corticales y/o del hipocampo) y, a su vez, incrementa el riesgo de desarrollar la EA, nuestros hallazgos vendrían a confirmar evidencias recientes que relacionan la presencia de agregados de A β con la aparición de alteraciones del sueño (Roh *et al.*, 2012), sugiriendo la necesidad de diseñar estrategias terapéuticas orientadas a mejorar la calidad del sueño en personas mayores en alto riesgo de desarrollar EA.

6.1. Neurodegeneración incipiente e integridad del sueño: aspectos neurofisiológicos y subjetivos

El envejecimiento altera de forma natural la calidad del sueño (Boudreau, 2013; Unruh *et al.*, 2008; Vitiello *et al.*, 2004; Webb, 1982; Feinberg *et al.*, 1967), y estas alteraciones se acompañan de un empeoramiento de la función cognitiva en personas mayores (Amer *et al.*, 2013; Miyata *et al.*, 2013; Potvin *et al.*, 2012; Lim *et al.*, 2012; Keage *et al.*, 2012; Jaussent *et al.*, 2012), a pesar que esta relación no haya sido confirmada en todos los estudios (Saint Martin *et al.*, 2012).

Aunque una mala calidad de sueño podría provocar un deterioro neurológico que potenciara el deterioro cognitivo en las personas mayores (Lim *et al.*, 2012), otros factores indirectamente podrían potenciar esta relación. Por ejemplo, la presencia de trastornos respiratorios durante el sueño, como el síndrome de apnea obstructiva, produce un incremento significativo de la fragmentación del sueño, que altera el funcionamiento cognitivo (Mathieu *et al.*, 2008; Ferini-Strambi *et al.*, 2003). Otro factor a tener en cuenta es la presencia de somnolencia diurna excesiva que ha mostrado ser un buen predictor del riesgo de accidentes cardiovasculares (Blachier *et al.*, 2012; Empana *et al.*, 2009) y del diagnóstico de demencia vascular (Elwood *et al.*, 2011) en mayores de 65 años, potenciando de esta forma la progresión del deterioro cognitivo asociado al envejecimiento. Otra hipótesis plausible es que la mala calidad de sueño pueda ser una consecuencia de las lesiones cerebrales que se desarrollan en los años

previos al diagnóstico de la EA, como apuntan estudios recientes con ratones transgénicos (Roh *et al.*, 2012) y humanos (Ju *et al.*, 2013). Esta hipótesis cobra fuerza si consideramos la frecuente asociación entre alteraciones del sueño y EA (Bombois *et al.*, 2010; Moe *et al.*, 1995; Vitiello *et al.*, 1990; Loewenstein *et al.*, 1982; Prinz *et al.*, 1982) que se vuelve más evidente a medida que progresa la enfermedad (Bonanni *et al.*, 2005; Moe *et al.*, 1995).

Hasta la fecha, han sido escasos los estudios que han tratado de determinar si una peor calidad de sueño precede al diagnóstico de la EA (Di Lulio *et al.*, 2010; Edwards *et al.*, 2009; Ellison *et al.*, 2008; Gallassi *et al.*, 2008; Geda *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2008; Lobo *et al.*, 2008; Muangpaisan *et al.*, 2008; López *et al.*, 2005; Geda *et al.*, 2004; Forsell *et al.*, 2003; Lyketsos *et al.*, 2002). Los estudios que evalúan la calidad del sueño mediante cuestionarios concluyen que las alteraciones del sueño constituyen uno de los seis síntomas neuropsiquiátricos más comunes en personas mayores con DCL (Di Lulio *et al.*, 2010; Edward *et al.*, 2009; Ellison *et al.*, 2008; Muangpaisan *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2008; Geda *et al.*, 2004), y una de las manifestaciones con mayor relevancia clínica (Gallassi *et al.*, 2008; Lyketsos *et al.*, 2002). En general, los individuos con DCL tienen más problemas de sueño que las personas mayores sanas (Geda *et al.*, 2008; Lobo *et al.*, 2008; Muangpaisan *et al.*, 2008; Geda *et al.*, 2004; Lyketsos *et al.*, 2002; para una revisión reciente, ver Bombois *et al.*, 2010; Beaulieu-Bonneau & Hudon, 2009) y éstos son menos frecuentes que en pacientes con EA (Geda *et al.*, 2004; Lyketsos *et al.*, 2002). Sin embargo, no todos los estudios encuentran diferencias con controles sanos (Gallassi *et al.*, 2008; Forsell *et al.*, 2003) o con pacientes diagnosticados con EA (López *et al.*, 2005). Podríamos decir que los problemas de sueño son más evidentes en personas mayores con DCL que en mayores sanos e incrementan con la progresión de la enfermedad (Geda *et al.*, 2004; Lyketsos *et al.*, 2002), lo cual apoyaría la hipótesis de que el DCL es un estadio intermedio entre el envejecimiento normal y el patológico (Markesbery, 2010; Markesbery *et al.*, 2006; Guillozet *et al.*, 2003).

Nuestros resultados confirmaron estos hallazgos mediante la administración de un cuestionario compuesto por 5 preguntas centradas en aspectos del sueño que habitualmente están afectados en la EA (Hita-Yáñez *et al.*, 2013). Todos los parámetros evaluados fueron capaces de discriminar entre controles sanos y personas con DCLa, sugiriendo que un instrumento simplificado que integre este conjunto de preguntas podría ser utilizado en consultas de atención primaria, junto con otras pruebas de *screening*, para mejorar la identificación de personas mayores en alto riesgo de desarrollar la EA.

Hasta el momento, sólo dos estudios han evaluado la estructura del sueño en sujetos con DCL mediante registros de PSG nocturna (Westerberg *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2009). El primero de estos trabajos no encontró diferencias significativas en la estructura del sueño al comparar controles, DCL y EA, aunque observó una disminución de la eficiencia de sueño al combinar en el mismo grupo a sujetos con DCL y pacientes con EA (Yu *et al.*, 2009). Sin embargo, la muestra que emplearon en dicho estudio fue excesivamente pequeñas (13 controles, 12 DCL y 10 EA) y su variabilidad podría haber enmascarado las diferencias en los patrones de sueño al comparar ambos grupos (Yu *et al.*, 2009). Además, los pacientes con EA del mencionado estudio se encontraban bajo tratamiento farmacológico con inhibidores de la colinesterasa en el momento del registro PSG. Dicho tratamiento impide que se degrade la acetilcolina sobrante en el espacio sináptico en la corteza cerebral, promoviendo las características electrofisiológicas del sueño REM (Vázquez & Baghdoyan, 2001), y por lo tanto ensombreciendo la reducción de sueño REM que muestran los pacientes con EA (Bonanni *et al.*, 2005; Moe *et al.*, 1995; Prinz *et al.*, 1982).

Más recientemente, Westerberg y colaboradores (2012) encontraron que las personas mayores con DCLa mostraban menos SOL y REM y más VIS, todo lo cual conducía a una menor eficiencia de sueño respecto a los controles. No obstante, el mencionado

trabajo presenta algunas limitaciones que merecen destacarse. Por una parte, la muestra utilizada fue pequeña además de descompensada (18 controles y 10 DCLa), lo que podría afectar sensiblemente a los resultados obtenidos. Por otra, a diferencia de nuestro estudio (Hita-Yáñez *et al.*, 2012), Westerberg y colaboradores (2012) no cuantificaron los arousals lo que les impidió determinar niveles de fragmentación del sueño en cada uno de los grupos.

Nuestros resultados muestran que las personas mayores con DCLa tienen un SOL más fragmentado y además presentan una reducción significativa del sueño REM, que se ve acentuada en los DCLa $\epsilon 4^+$ (Hita-Yáñez *et al.*, 2012). Estos resultados podrían estar causados por diferentes factores relacionados con la neuropatología de la EA, como se discutirá a continuación.

El núcleo supraquiasmático (NSQ), localizado en el hipotálamo, controla internamente los diferentes ritmos circadianos en mamíferos, entre los que se encuentra el ciclo vigilia-sueño (Buijs & Kalsbeek, 2001). Este marcapasos circadiano mantiene conexiones GABAérgicas con el NPVL a través del área preóptica medial, y de los núcleos dorsomediales (Deurveilher *et al.*, 2002) y dorsolaterales del hipotálamo (Chou *et al.*, 2003), por lo que la coordinación entre ambos núcleos podría jugar un papel fundamental en los procesos de inicio y mantenimiento del sueño. En línea con esta hipótesis, se ha encontrado que los pacientes con EA, desde las fases iniciales de la enfermedad, no solo muestran este tipo de alteraciones del sueño sino que también presentan alteraciones anatómicas (Hoogendijk *et al.*, 1996) y funcionales (Wu *et al.*, 2003) del NSQ. Estudios *post mortem* a partir de tejido cerebral de sujetos con DCL y pacientes con EA han mostrado una degeneración de la vía retino-hipotalámica (Wu *et al.*, 2003) que podría incidir negativamente sobre la integridad del sueño. Por lo tanto, los daños anátomo-funcionales en el NSQ y la vía retino-hipotalámica (Wu *et al.*, 2003; Hoogendijk *et al.*, 1996) podrían estar alterando la eficacia sináptica entre el NSQ y el NPVL, dificultando así el inicio y/o mantenimiento del sueño y, por lo tanto, facilitando

la fragmentación del SOL observada en nuestro trabajo (Hita-Yáñez *et al.*, 2012). Esta hipótesis viene avalada por estudios previos que han mostrado un aumento del número de arousals durante el sueño y/o en el porcentaje de vigilia intra-sueño en pacientes con EA (Bonanni *et al.*, 2005; Moe *et al.*, 1995; Vitiello *et al.*, 1990), así como reducciones significativas en el porcentaje de SOL (Moe *et al.*, 1995; Vitiello *et al.*, 1990; Loewenstein *et al.*, 1982).

El presente trabajo es el primero en mostrar reducciones significativas del sueño REM en individuos con DCLa (Hita-Yáñez *et al.*, 2012). Estudios previos han mostrado disminuciones del sueño REM en pacientes con EA (Yu *et al.*, 2009; Bonanni *et al.*, 2005; Moe *et al.*, 1995; Vitiello *et al.*, 1990; Bliwise *et al.*, 1989; Prinz *et al.*, 1982; Loewenstein *et al.*, 1982), aunque solo tres de estos estudios llegaron a obtener diferencias significativas (Bonanni *et al.*, 2005; Moe *et al.*, 1995; Prinz *et al.*, 1982). La variabilidad entre estudios podría deberse a los reducidos tamaños de muestras empleados en alguno de estos trabajos (Loewenstein *et al.*, 1982) y/o a la administración de medicamentos inhibidores de la colinesterasa durante los registros PSG (Yu *et al.*, 2009), como ya hemos comentado anteriormente. Estos argumentos son avalados por aquellos estudios que controlaron de forma eficiente ambas variables (Bonanni *et al.*, 2005; Moe *et al.*, 1995; Prinz *et al.*, 1982).

Por otra parte, trabajos previos han mostrado diferencias significativas entre controles y pacientes con EA en la potencia espectral contenida en el EEG del sueño REM (Petit *et al.*, 1993; Prinz *et al.*, 1992; Petit *et al.*, 1992), apuntando a este estado cerebral como especialmente vulnerable a las lesiones que subyacen a la EA. La disminución de sueño REM que caracteriza al continuo DCL-EA podría ser explicado por varios hallazgos previos. En primer lugar, los niveles de acetilcolina liberados por el núcleo basal de Meynert son significativamente más elevados durante el sueño REM que en cualquier otro estado cerebral (Vázquez & Baghdoyan, 2001), y esta liberación de acetilcolina en regiones de la neocorteza juega un papel esencial en la

desincronización del EEG que caracteriza al sueño REM (Berntson *et al.*, 2002). La integridad de estos mecanismos cerebrales podría verse amenazada por la muerte de neuronas colinérgicas en este núcleo del prosencéfalo basal observada en personas mayores con DCL (Grothe *et al.*, 2010) y en pacientes con EA (Vogels *et al.*, 1990; Arendt *et al.*, 1985; McGeer *et al.*, 1984; Whitehouse *et al.*, 1981) que, a su vez, podría contribuir a la aparición de las alteraciones cognitivas asociada a esta enfermedad (Coyle *et al.*, 1983). En segundo lugar, los mecanismos cerebrales que subyacen a la generación y mantenimiento del sueño REM se encuentran localizados en diferentes regiones del puente de la formación troncoencefálica (Vanni-Mercier *et al.*, 1989). Estudios *post mortem* de cerebros de pacientes con EA han mostrado cambios morfológicos en las neuronas del tegmento pedunculopontino y laterodorsal (Giess & Schlote, 1995; Mufson *et al.*, 1988; Terry & Katzman, 1983), sugiriendo que la degeneración de estos núcleos podría estar relacionada con las alteraciones del sueño REM observadas en DCL y EA. Esta hipótesis se ha confirmado en un modelo animal transgénico de EA (hAPP695.SWE - Tg2576), observándose que la vulnerabilidad de las neuronas colinérgicas del núcleo pedunculopontino a la presencia de agregados de A β correlaciona significativamente con la disminución del sueño REM (Zhang *et al.*, 2005). Estas evidencias, tomadas en conjunto, sugieren que las alteraciones del sueño REM que caracterizan al DCL-EA podrían estar causadas por la muerte de neuronas colinérgicas del núcleo basal de Meynert, que facilitan la desincronización del EEG del sueño REM, así como por la vulnerabilidad de las neuronas del tegmento pedunculopontino y laterodorsal a la patofisiología de la EA, ambos núcleos directamente relacionados con la generación y el mantenimiento del sueño REM.

El presente estudio es el primero en abordar las dificultades de los individuos con DCLa para percibir correctamente el sueño mediante la comparación de datos objetivos (PSG) y estimaciones subjetivas (cuestionario de sueño). Nuestros resultados muestran que las personas mayores con DCLa sobreestiman significativamente el tiempo que tardan en conciliar el sueño (Hita-Yáñez *et al.*, 2013), lo que podría estar

causado por el propio deterioro de los mecanismos cerebrales que controlan la memoria, como se justificará a continuación. Por una parte, la percepción retrospectiva del tiempo depende más de la memoria que de procesos atencionales, especialmente cuando las estimaciones temporales abarcan unos cuantos minutos (Ornstein, 1970). Estas alteraciones de la percepción del tiempo son relativamente comunes en pacientes con problemas de memoria, incluida la EA (Nichelli *et al.*, 1993). Por otra parte, la integridad del lóbulo temporal, estructura de la corteza cerebral comprometida anatómicamente y funcionalmente desde las fases iniciales de la EA (Kordower *et al.*, 2001; Van Hoesen *et al.*, 2000; Gómez-Isla *et al.*, 1996; Braak & Braak, 1991), juega un papel crítico en la percepción del tiempo, como demuestran aquellos estudios en los que se evalúa esta función en pacientes con lesiones del lóbulo temporal (Noulhiane *et al.*, 2007). Por lo tanto, las alteraciones de la memoria, principalmente aquellas causadas por la pérdida de integridad del lóbulo temporal, podrían estar facilitando los problemas para estimar correctamente la latencia al comienzo del sueño que presentan las personas mayores con DCLa.

La latencia al comienzo del sueño es también sobreestimada por aquellos pacientes que sufren hipersomnolencia (Chervin & Guilleminault, 1996), por lo que pudiera ocurrir que la sobreestimación de la latencia de sueño en nuestros sujetos con DCLa fuera un síntoma asociado a la presencia de trastornos respiratorios y/o motores durante el sueño que cursan con elevados niveles de somnolencia diurna. Sin embargo, nuestros resultados muestran que los niveles de somnolencia diurna no difirieron entre controles y DCLa, y tampoco hubo puntuaciones individuales en la ESS que hiciesen sospechar de un trastorno de estas características. Además, ningún participante, ni tampoco su cónyuge, informaron de síntomas asociados a trastornos respiratorios y/o motores durante el sueño. Por lo tanto, todo ello nos permite sugerir que, muy probablemente, las dificultades para estimar correctamente la latencia al comienzo del sueño observadas en los sujetos con DCLa están relacionadas con la neuropatología que subyace a la EA y no con otros trastornos y/o síntomas secundarios.

Nuestros resultados revelan que la disminución del sueño REM es todavía más acentuada en sujetos con DCLa que presentan el genotipo ApoE $\epsilon 4^+$. Sin embargo, los DCLa ApoE $\epsilon 4^+$ no mostraron una peor calidad de sueño subjetivo, y además este factor genético tampoco contribuyó a predecir las relaciones significativas entre las alteraciones objetivas y subjetivas del sueño (Hita-Yáñez *et al.*, 2012). Estudios recientes realizados con ratones que expresan la proteína ApoE $\epsilon 4$ humana han mostrado una reducción significativa del SOL y REM durante la exposición aguda a hipoxia intermitente y a fragmentación del sueño (Kaushal *et al.*, 2012) respecto a los animales no portadores de este genotipo, avalando la vulnerabilidad que confiere este polimorfismo genético ante las alteraciones de la arquitectura del sueño en mayores con DCLa $\epsilon 4^+$. Sin embargo, consideramos necesario realizar estudios longitudinales para establecer si los sujetos con DCLa $\epsilon 4^+$ que además presentan alteraciones del sueño convierten más rápido a EA que aquellos que presentan solo quejas subjetivas de sueño pero no alteraciones de la estructura del sueño.

6.2. Neuropatología de la enfermedad de Alzheimer y alteraciones del sueño

La EA se caracteriza por la acumulación de agregados de proteína A β insoluble que se extienden por el espacio extracelular, y por ONF que resultan de una hiperfosforilación de la proteína tau que afectan directamente a la integridad del citoesqueleto neuronal (Morishima-Kawashima & Ihara, 2002). Diferentes estudios han confirmado que el A β se convierte en neurotóxico sólo cuando se agrega (Lorenzo & Yankner, 1994; Pike *et al.*, 1991), para lo cual se requiere de condiciones de alta hidrofobicidad que faciliten un cambio conformacional en el péptido. En general, primero se agregan los oligómeros del A β , dando lugar a las protofibrillas que se ensamblan formando las fibrillas insolubles de conformación hoja β -plegada, que a su vez se agrupan para formar las placas seniles. Estos agregados de A β están integrados por los péptidos A β_{1-40} y A β_{1-42} , aunque éste último es el más abundante por sus propiedades de

hidrofobicidad y, en consecuencia, por su mayor potencial de agregación (Gandy, 2005).

Estudios realizados a partir de tejido cerebral *post mortem* han revelado que las personas mayores con DCL presentan más depósitos de A β que los controles sanos (Sabbagh *et al.*, 2006; Markesbery *et al.*, 2006; Guillozet *et al.*, 2003; Price & Morris, 1999), que se extienden por diferentes regiones de la neocorteza y la amígdala (Markesbery *et al.*, 2006; Morris & Price, 2001). Estos resultados han sido confirmados mediante estudios *in vivo* con tomografía por emisión de positrones que emplean el radiofármaco PIB como marcador de la presencia de A β en el cerebro humano (Kemppainen *et al.*, 2007). En esta dirección, otros investigadores han observado que la acumulación de A β precede en años a las atrofas corticales que presentan las personas mayores en alto riesgo de desarrollar EA, sugiriendo que los agregados de A β aparecen incluso antes que se manifieste la sintomatología asociada al DCL (Jack *et al.*, 2008).

Estudios realizados en modelos animales de amiloidosis han observado que las concentraciones de A β en LCE fluctúan a lo largo del día y que estas variaciones están relacionadas con la alternancia de la vigilia y el sueño (Kang *et al.*, 2009), alcanzando concentraciones máximas durante la vigilia y mínimas durante el sueño. Tras una privación de sueño de 6 horas, las concentraciones de A β incrementan situándose al mismo nivel que las de vigilia. Cuando la privación de sueño es crónica (20 horas diarias durante 21 días consecutivos), los ratones muestran un incremento significativo de placas de A β en diferentes regiones del LTM (corteza entorrinal, piriforme e hipocampo). La administración de orexina, molécula que participa en la regulación de la vigilia (Ohno & Sakurai, 2008; Saper *et al.*, 2001) genera un incremento de los niveles de A β similar al que ocurre durante la vigilia, y la administración de un antagonista de la orexina (de los receptores OXR1 y OXR2) disminuye las concentraciones de A β (Kang *et al.*, 2009). Aunque estos experimentos mostraron

correlaciones significativas entre los niveles de A β y el ciclo vigilia-sueño, no ofrecen información relevante sobre las relaciones entre la fisiopatología de la EA y las alteraciones del sueño.

En humanos, las concentraciones de A β también presentan un patrón circadiano caracterizado por incrementos de A β durante la vigilia y disminuciones durante el sueño (Bateman *et al.*, 2007), similar al observado en ratones (Kang *et al.*, 2009). Estudios más recientes han observado que el incremento de A β podría estar causado por las fragmentaciones del sueño que caracterizan al envejecimiento, y que estas fluctuaciones de los niveles de A β es más pronunciada para A β_{1-42} que para A β_{1-40} (Huang *et al.*, 2012).

En un trabajo posterior, Roh y colaboradores (2012) examinaron si la aparición de placas de A β estaba asociada a las alteraciones del sueño en ratones transgénicos APP-PS1. Estos investigadores observaron que después de aparecer los primeros agregados de A β (a las 9 semanas), los ratones desarrollaban alteraciones de la estructura del sueño que se intensificaban a medida que incrementaba la concentración de placas de A β . Estos hallazgos no solo sugieren que la aparición de agregados de A β precede a las alteraciones del sueño, sino que ambas condiciones, metabolismo de A β y alteraciones del sueño, podrían contribuir a la progresión de la EA (Gerstner *et al.*, 2012). Estos resultados también invitan a pensar que las alteraciones de la estructura del sueño podrían ocurrir en las fases más incipientes de la EA, coincidiendo con la aparición de los primeros depósitos de A β en personas mayores con DCL. Otro estudio reciente ha confirmado esta relación entre A β y alteraciones del sueño, aunque utilizando medidas de actigrafía (Ju *et al.*, 2013). La técnica de la actigrafía discrimina entre períodos de actividad y quietud motora, aunque no permite determinar con precisión si la persona está despierta o dormida ni establecer la fase del sueño en que se encuentra. En cualquier caso, los autores de ese trabajo concluyeron que la eficiencia del “sueño” era significativamente menor en

personas mayores que presentaban una mayor concentración de $A\beta_{1-42}$ en LCE, aspecto que podría reflejar una EA incipiente (Ju *et al.*, 2013).

Nuestros resultados confirman que los individuos con DCLa presentan alteraciones de la arquitectura del sueño y una peor calidad de sueño subjetiva en comparación con personas mayores neurológica y cognitivamente intactas (Hita-Yáñez *et al.*, 2013; 2012). Dado que la densidad de agregados de $A\beta$ es mayor en sujetos con DCL que en controles sanos (Sabbagh *et al.*, 2006; Markesbery *et al.*, 2006; Guillozet *et al.*, 2003; Price & Morris, 1999) y dada la relación existente entre densidad de placas seniles y alteraciones del sueño en modelos animales de EA (Roh *et al.*, 2012), es posible que las alteraciones del sueño en sujetos con DCLa señalicen una mayor cantidad de placas de $A\beta$ en estos individuos. Esta hipótesis se ve fortalecida por el hecho de que las alteraciones del sueño son menos frecuentes en controles sanos, se agravan conforme avanza la severidad de la demencia (Moe *et al.*, 1995), y el insomnio crónico aumenta el riesgo de desarrollar o incluso acelerar la EA (Osorio *et al.*, 2011).

Durante el sueño se desarrollan procesos encaminados a eliminar los radicales libres generados durante la vigilia (Reimund, 1994), mecanismos de mantenimiento celular que se verían alterados en condiciones patológicas donde el sueño está interrumpido o disminuido. Además, los problemas de sueño asociados al envejecimiento normal (Naidoo *et al.*, 2008) y a la EA (Lindholm *et al.*, 2006; Katayama *et al.*, 1999) potencian el deterioro de la respuesta del retículo endoplasmático ante el estrés celular provocando un plegamiento anómalo, acumulación y agregación de proteínas. Esta respuesta celular desadaptativa resulta en un incremento de la señalización proapoptótica que contribuye a la patogénesis de la EA (Naidoo *et al.*, 2008; para una revisión, ver Salminen *et al.*, 2009). Por lo tanto, las alteraciones del sueño observadas en las personas mayores con DCLa podrían formar parte de un bucle de retroalimentación positiva que facilita la agregación de proteínas durante los años que preceden al diagnóstico de la enfermedad.

En resumen, las alteraciones del sueño que caracterizan a las personas mayores con DCLa podrían venir determinadas, en un inicio, por el deterioro de la respuesta del retículo endoplasmático ante el estrés celular que incrementa la señalización proapoptótica que a su vez facilita el metabolismo del A β (Naidoo *et al.*, 2008). El incremento de la densidad de placas seniles alteraría la estructura del sueño (Roh *et al.*, 2012) y ambas condiciones actuarían como un bucle de retroalimentación positiva que facilitaría la evolución de la EA. En último extremo, estas alteraciones del sueño ejercerían un efecto pernicioso sobre la formación de nuevas memorias, sobre todo episódicas, debido a los procesos de codificación y consolidación sináptica que se realizan durante el sueño (Tononi & Cirelli, 2006; Buzsáki, 1989).

6.3. Alteraciones del sueño, deterioro cognitivo y enfermedad de Alzheimer

Parte de los cambios moleculares, celulares y sinápticos que se producen durante el sueño juegan un papel fundamental en la formación y consolidación de nuevas memorias (Abel *et al.*, 2013; Holz *et al.*, 2012; McDermott *et al.*, 2003; Graves *et al.*, 2001). Parece que el sueño desempeña un papel fundamental en la consolidación de memorias procedimentales (Walker *et al.*, 2002; Stickgold *et al.*, 2000) y declarativas (Gais *et al.*, 2007; Gais *et al.*, 2006; Peigneux *et al.*, 2004) (para una revisión, ver Diekelmann & Born, 2010). Estudios recientes han mostrado que la privación de sueño también afecta a la codificación de nuevas memorias, especialmente en lo referente a memorias episódicas (Yoo *et al.*, 2007). Además, existen evidencias de que un sueño poco profundo o fragmentado puede llegar a alterar los procesos de codificación de la información que después será consolidada (Van der Werf *et al.*, 2009). Varias teorías podrían explicar las consecuencias de los problemas de sueño sobre la función cognitiva en el continuo DCL-EA.

En primer lugar, la *teoría de la homeostasis sináptica* postula que durante la codificación producida durante el período de vigilia se producen fenómenos de potenciación sináptica (aumento tanto de número de sinapsis como de su eficacia) que alcanzan su máximo durante la vigilia previa al sueño. De acuerdo con esta teoría, los procesos de codificación dan comienzo durante la vigilia, pero es durante el sueño cuando la eficacia sináptica pueda recuperar su nivel basal para que la nueva información pueda ser codificada al día siguiente (Tononi & Cirelli, 2006). Esta hipótesis ha sido confirmada experimentalmente, demostrándose que la calidad del sueño anterior y posterior al aprendizaje es fundamental para la adquisición de nuevas memorias (Axmacher *et al.*, 2008; Yoo *et al.*, 2007; Huber *et al.*, 2004). En este último estudio, el porcentaje de SOL post-aprendizaje también correlacionó positivamente con el recuerdo de las habilidades adquiridas (Huber *et al.*, 2004), sugiriendo que el SOL es funcionalmente relevante no solo para que el cerebro pueda codificar nueva información al día siguiente sino también para facilitar su consolidación (Van Der Werf *et al.*, 2009; Eschenko & Sara 2008; Gais & Born, 2004). Por lo tanto, la fragmentación del SOL observada en los sujetos con DCLa dificultaría la recuperación de este nivel basal de eficacia sináptica, disminuyendo la capacidad para codificar nueva información al día siguiente, y también alteraría los procesos de consolidación de nuevas memorias.

De acuerdo con la *teoría de la consolidación* (Buzsáki, 1989), el hipocampo codifica información de forma temporal durante estados de elevada actividad neuronal (vigilia y sueño REM), mientras que durante el SOL, estado cerebral en el que las neuronas piramidales muestran un patrón de sincronía, reactiva y transfiere la información recién adquirida a la neocorteza, donde se integra con información preexistente facilitando así la perdurabilidad de la nueva memoria. Concretamente, las áreas cerebrales que se activan durante el entrenamiento se activan en el mismo orden secuencial durante el sueño (Peigneux *et al.*, 2004). Además, la actividad del hipocampo durante el SOL correlaciona con la mejora del rendimiento en tareas de memoria al día siguiente

(Peigneux *et al.*, 2004). El SOL ha mostrado ser especialmente relevante para la consolidación de memorias episódicas (Peigneux *et al.*, 2004; Gais *et al.*, 2002; Plihal & Born, 1997; Yaroush *et al.*, 1971), mecanismos sensiblemente afectados en la EA (Greene *et al.*, 1996; Grady *et al.*, 1988) y en el DCL (Dubois *et al.*, 2007). En este contexto, la fragmentación del SOL que presentan nuestros sujetos con DCLa podría interrumpir la reactivación y posterior transferencia de la información del hipocampo hacia la neocorteza y, por tanto, alterar los mecanismos cerebrales de consolidación sináptica que se producen durante el sueño.

En pacientes con EA, la severidad de las alteraciones del sueño incrementa a medida que progresa la enfermedad (Bonanni *et al.*, 2005; Moe *et al.*, 1995), aspecto que podría estar relacionado parcialmente con el deterioro progresivo de la memoria que sufren estos pacientes. En esta dirección, Moe y colaboradores (1995) mostraron correlaciones significativas entre los cambios en la estructura del sueño y el deterioro cognitivo en pacientes con EA. Más concretamente, los porcentajes de VIS y de sueño REM estaban relacionados con el deterioro cognitivo durante el progreso de la enfermedad, sugiriendo que los mecanismos cerebrales responsables tanto del sueño como de la función cognitiva degeneran a un ritmo comparable durante el transcurso de la EA (Moe *et al.*, 1995). Las correlaciones entre sueño REM y la función cognitiva encontradas en el citado estudio sugieren que ambos procesos, que requieren de la liberación de acetilcolina en la neocorteza (Hasselmo, 2006; Vázquez & Baghdoyan, 2001), podrían estar relacionados en el curso de la EA. En favor de esta hipótesis, otros estudios han mostrado que la administración de donezepil, fármaco inhibidor de la colinesterasa que se utiliza frecuentemente para el tratamiento de la EA, incrementa la duración del sueño REM y mejora la función cognitiva de pacientes con EA (Mizuno *et al.*, 2004). Todos estos resultados sugieren que la disfunción colinérgica que caracteriza a la EA podría incidir negativamente sobre la función cognitiva y el sueño REM, aspectos que, conjuntamente, podrían ser de relevancia en el diagnóstico precoz de la EA.

Los sujetos con DCLa presentan problemas de memoria (van der Meulen *et al.*, 2012; Dubois *et al.*, 2007; Adlam *et al.*, 2006; Dudas *et al.*, 2005) y, como hemos confirmado en este estudio, tienen además alteraciones de la estructura del sueño objetivas y subjetivas (Hita-Yáñez *et al.*, 2013; 2012). Por lo tanto, la relación sueño REM-función cognitiva podría estar afectada desde años antes de que se produzca el diagnóstico de la EA. Sin embargo, nuestro estudio no encontró relaciones significativas entre el sueño REM (u otro descriptor del sueño fisiológico o subjetivo) y la función cognitiva, ni en el grupo control ni en el de mayores con DCLa. Paradójicamente, el porcentaje de sueño REM correlacionó positivamente con la ejecución en la prueba de memoria inmediata en el grupo DCLa $\epsilon 4^-$, relación que no se extendió a los sujetos con DCLa $\epsilon 4^+$. Estos resultados confirman hallazgos previos que mostraron relaciones entre diferentes parámetros actigráficos del ciclo actividad-descanso y cambios en la función cognitiva global en pacientes con EA $\epsilon 4^-$ (Yesavage *et al.*, 2004). Claramente, hacen falta más estudios en esta dirección con muestras más grandes y que empleen registros PSG con el objetivo de determinar si las alteraciones del sueño acompañan al deterioro cognitivo en la progresión hacia la EA.

6.4. Limitaciones del estudio

El presente estudio presenta ciertas limitaciones metodológicas que deberán ser consideradas en futuros experimentos.

Los registros de PSG nocturna realizados no fueron precedidos por una noche de adaptación en el laboratorio. Como consecuencia, nuestros resultados podrían estar afectados por el “efecto de la primera noche” (Browman & Cartwright 1980; Agnew *et al.*, 1966) que parece ser más evidente en personas mayores (Webb & Campbell, 1979). Aunque este efecto podría haber alterado los resultados del presente estudio, se esperaría que hubiera afectado de la misma forma a los controles sanos y a los individuos con DCLa.

El cuestionario empleado para evaluar la calidad de sueño subjetiva hace referencia al sueño del mes anterior a la evaluación PSG. Por lo tanto, nuestro estudio asume que el registro PSG es representativo de una noche de sueño típica del último mes. Estas diferencias temporales en la evaluación objetiva-subjetiva del sueño podrían explicar por qué no se obtuvieron correlaciones significativas entre los resultados derivados de registros PSG y la calidad de sueño subjetiva en las personas mayores con DCLa y, por lo tanto, atenuar nuestras conclusiones sobre la ausencia de relación significativa en esta población en alto riesgo de desarrollar EA.

Ninguno de los participantes del estudio (ni sus conyuges) informó de sintomatología relacionada con trastornos respiratorios y/o motores durante el sueño, aspecto que fue confirmado mediante la administración de un cuestionario para evaluar los niveles de somnolencia diurna. Sin embargo, existe la posibilidad de que alguno de estos sujetos sufriera alguna de estas patologías, y que dicha alteración hubiera afectado a la continuidad del sueño. No podemos descartar esta posibilidad ya que los registros de PSG realizados no incorporaron medidas respiratorias (bandas respiratorias, pulsioximetría, sensor de ronquidos, etc.) o EMG distal para detectar movimientos periódicos de las piernas o brazos.

Nuestro estudio evaluó la función cognitiva mediante la administración de pruebas neuropsicológicas convencionales (MMSE y subtests de Memoria Lógica para el recuerdo inmediato y diferido de la Escala de Memoria de Wechsler). Hubiera sido interesante evaluar también la integridad de la memoria asociativa, ya que las personas mayores con DCLa no son capaces de beneficiarse de los efectos positivos de la congruencia semántica para establecer asociaciones episódicas y, además, este deterioro de la memoria asociativa está relacionado con cambios de volumen del hipocampo y de la corteza entorrinal (Atienza *et al.*, 2011a). Futuros experimentos dirigidos a entender mejor las relaciones entre el deterioro de la memoria y las

alteraciones del sueño en personas mayores en alto riesgo de desarrollar la EA deberían incorporar índices de memoria asociativa que permitan estudiar este efecto.

7. CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

- Las personas mayores con DCLa presentan alteraciones de la estructura del sueño respecto a controles sanos. Estas alteraciones se traducen en una disminución del sueño REM y un incremento de la fragmentación del SOL.
- Las personas mayores con DCLa muestran una peor calidad de sueño subjetiva en comparación con los controles. Más concretamente, los individuos con DCLa perciben que tardan más tiempo en conciliar el sueño, tienen una duración de sueño más corta, se despiertan más frecuentemente en la noche, tienen más dificultad para volver a dormirse cuando se despiertan y, en general, muestran una peor calidad de sueño que sus homólogos controles.
- Los sujetos con DCLa $\epsilon 4^+$ presentan una disminución del sueño REM más acentuada que los DCLa $\epsilon 4^-$. Sin embargo, la presencia de este polimorfismo genético no parece estar relacionada con los cambios en la calidad de sueño subjetiva.
- Las alteraciones del sueño (fisiológico y subjetivo) observadas en los individuos con DCLa no están relacionadas con el deterioro cognitivo que caracteriza a estos sujetos. Solo hallamos una relación marginal entre la proporción de sueño REM y las puntuaciones en memoria inmediata en el subgrupo de sujetos con DCLa $\epsilon 4^-$, cuya interpretación debería ser tomada con precaución dado el reducido tamaño de la muestra.
- Las alteraciones de la calidad de sueño subjetiva no están relacionadas con las modificaciones del sueño fisiológico en los sujetos con DCLa. Sin embargo, la percepción subjetiva de la frecuencia de despertares nocturnos fue un excelente predictor de la fragmentación del SOL asociada al envejecimiento normal.

- Las personas mayores con DCLa muestran una percepción errónea de la latencia al comienzo del sueño nocturno, resultado derivado de la comparación de registros PSG con estimaciones subjetivas de este parámetro.

En resumen, los resultados derivados del presente trabajo de Tesis sugieren que la relación entre los agregados de A β y las alteraciones del sueño observadas en modelos animales de amiloidosis podría extenderse a las personas mayores en alto riesgo de desarrollar EA. Esta combinación de marcadores podría ser de utilidad para diferenciar procesos de envejecimiento normal de aquellos otros caracterizados por una neurodegeneración incipiente. Además, estos resultados justificarían el diseño de estrategias terapéuticas orientadas a mejorar la calidad de sueño en el envejecimiento lo cual, en último extremo, podría contribuir a ralentizar o detener parcialmente algunos de los factores que intervienen en la aparición de los agregados de A β que subyacen a la EA.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abel T, Havekes R, Saletin JM, Walker MP (2013). Sleep, plasticity and memory from molecules to whole-brain networks. *Curr Biol*, 23: R774-788.
- Abellán-García A, Ayala García A (2012). Un perfil de las personas mayores en España. Indicadores estadísticos básicos. Madrid, Informes Portal Mayores, nº 131.
- Adlam AL, Bozeat S, Arnold R, Watson P, Hodges JR (2006). Semantic knowledge in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease. *Cortex*, 42: 675-684.
- Aggarwal NT, Wilson RS, Beck TL, Bienias JL, Berry-Kravis E, Bennett DA (2005). The apolipoprotein E4 allele and incident Alzheimer's disease in persons with mild cognitive impairment. *Neurocase*, 11: 3-7.
- Agnew HW, Webb WB, Williams RL (1966). The first night effect: an EEG study of sleep. *Psychophysiology*, 2: 263-266.
- Allegri RF, Taragano FE, Krupitzki H, Serrano CM, Dillon C, Sarasola D, Feldman M, Tufró G, Martelli M, Sanchez V (2010). Role of cognitive reserve in progression from mild cognitive impairment to dementia. *Dement Neuropsychol*, 4: 28-34.
- Allen JS, Brass J, Brown CK, Damasio H (2005). Normal neuroanatomical variation due to age: the major lobes and a parcellation of the temporal region. *Neurobiol Aging*, 26: 1245-1260.
- Amer MS, Hamza SA, El Akkad RM, Abdel Galeel YI (2013). Does self-reported sleep quality predict poor cognitive performance among elderly living in elderly homes?. *Aging Ment Health*, 17: 788-792.
- American Sleep Disorder Association (1992). EEG arousals: Scoring rules and examples. *Sleep*, 15: 173-184.
- Ancoli-Israel S (2005). Sleep and aging: Prevalence of disturbed sleep and treatment considerations in older adults. *J Clin Psychiatry*, 66: 24-30.
- Anguera JA, Reuter-Lorenz PA, Willingham DT, Seidler RD (2010). Contributions of spatial working memory to visuomotor learning. *J Cogn Neurosci*, 22: 1917-1930.
- Apostolova LG, Lu P, Rogers S, Dutton RA, Hayashi KM, Toga AW, Cummings JL, Thompson PM (2008). 3D mapping of language networks in clinical and pre-clinical Alzheimer's disease. *Brain Lang*, 104: 33-41.
- Arendt T, Bigl V, Tennstedt A, Arendt A (1985). Neuronal loss in different parts of the nucleus basalis is related to neuritic plaque formation in cortical target areas in Alzheimer's disease. *Neuroscience*, 14: 1-14.
- Aretouli E, Brandt J (2010). Everyday functioning in mild cognitive impairment and its relationship with executive cognition. *Int J Geriatr Psychiatry*, 25: 224-233.
- Atienza M, Atalaia-Silva KC, González-Escamilla G, Gil-Neciga E, Suarez-González A, and Cantero JL (2011a). Associative memory deficits in mild cognitive impairment: the role of hippocampal formation. *Neuroimage*, 57: 1331-1342.
- Atienza M, Crespo-Garcia M, Cantero JL (2011b). Semantic congruence enhances memory of episodic associations: role of theta oscillations. *J Cogn Neurosci*, 23: 75-90.
- Axelrod BN, Henry RR (1992). Age-related performance on the Wisconsin Card Sorting, similarities, and controlled oral word association tests. *Clin Neuropsychol*, 6: 16-26.
- Axmacher N, Haupt S, Fernandez G, Elger CE, Fell J (2008). The role of sleep in declarative memory consolidation—direct evidence by intracranial EEG. *Cereb Cortex*, 18: 500-507.
- Baddeley A (1992). Working memory. *Science*, 255: 556-559.

- Badham SP, Estes Z, Maylor EA (2011). Integrative and semantic relations equally alleviate age-related associative memory deficits. *Psychol Aging*, 27: 141-152.
- Barnes J, Bartlett JW, van de Pol LA, Loy CT, Scahill RI, Frost C, Thompson P, Fox NC (2009). A meta-analysis of hippocampal atrophy rates in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 30: 1711-1723.
- Barresi B, Nicholas M, Tabor Connor L, Obler LK, Albert ML (2000). Semantic degradation and lexical access in age-related naming failures. *Aging, Neuropsychology and Cognition*, 7: 169-178.
- Bateman RJ, Wen G, Morris J, Holtzman DM (2007). Fluctuations of CSF amyloid-beta levels: implications for a diagnostic and therapeutic biomarker. *Neurology*, 68: 666-669.
- Beason-held LL, Horwitz B (2002). Aging brain. In: Ramachandran VS editors. Encyclopedia of the human brain, USA: Elsevier Science. pp. 43-57.
- Beatty W, Salmon D, Tröster A (2002). Do primary and supplementary measures of semantic memory predict cognitive decline by patients with Alzheimer's disease?. *Aging Neuropsychology and Cognition*, 9: 1-10.
- Beaulieu-Bonneau S, Hudon C (2009). Sleep disturbances in older adults with mild cognitive impairment. *Int Psychogeriatr*, 21: 654-666.
- Belleville S, Chertkow H, Gauthier S (2007). Working memory and control of attention in persons with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neuropsychology*, 21: 458-469.
- Berntson GG, Shafi R, Sarter M (2002). Specific contributions of the basal forebrain corticopetal cholinergic system to electroencephalographic activity and sleep/waking behaviour. *Eur J Neurosci*, 16: 2453-2461.
- Blachier M, Dauvilliers Y, Jaussent I, Helmer C, Ritchie K, Jouven X, Tzourio C, Amouyel P, A Besset, Ducimetiere P, et al. (2012). Excessive daytime sleepiness and vascular events: the Three City Study. *Ann Neurol*, 71: 661-667.
- Blackburn EH (2001). Switching and signaling at the telomere. *Cell*, 106: 661-673.
- Bliwise DL (2004). Sleep disorders in Alzheimer's disease and other dementias. *Clin Cornerstone*, 6: 16-28.
- Bliwise DL, Tinklenberg J, Yesavage JA, Davies H, Pursley AM, Petta DE, Widrow L, Guilleminault C, Zarcone VP, Dement WC (1989). REM latency in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*, 25: 320-328.
- Böhm P, Peña-Casanova J, Aguilar M, Hernandez G, Sol JM, Blesa R, NORMACODEN Group (1998). Clinical validity and utility of the interview for deterioration of daily living in dementia for Spanish-speaking communities. *Int Psychogeriatr*, 10: 261-270.
- Bombois S, Derambure P, Pasquier F, Monaca C (2010). Sleep disorders in aging and dementia. *J Nutr Health Aging*, 14: 212-217.
- Bonanni E, Maestri M, Tognoni G, Fabbrini M, Nucciarone B, Manca ML, Gori S, Iudice A, Murri L (2005). Daytime sleepiness in mild and moderate Alzheimer's disease and its relationship with cognitive impairment. *J Sleep Res*, 14: 311-317.
- Bondi MW, Serody AB, Chan AS, Eberson-Shumate SC, Delis DC, Hansen LA, Salmon DP (2002). Cognitive and neuropathologic correlates of Stroop Color-Word Test performance in Alzheimer's disease. *Neuropsychology*, 16: 335-343.
- Boudreau EA (2013). Sleep Pathology in the Elderly. In: Kushida C, editors. Encyclopedia of Sleep, Waltham, MA: Academic Press. pp. 659-663.
- Boveris A, Chance B (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J*, 134: 707-716.

- Boyle PA, Buchman AS, Wilson RS, Kelly JF, Bennett DA (2010). The APOE epsilon4 allele is associated with incident mild cognitive impairment among community-dwelling older persons. *Neuroepidemiology*, 34: 43-49.
- Braak H, Braak E (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)*, 82: 239-259.
- Braak H, Thal DR, Ghebremedhin E, Del Tredici K (2011). Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: age categories from 1 to 100 years. *J Neuropathol Exp Neurol*, 70: 960-969.
- Brandenberger G, Viola AU, Ehrhart J, Charloux A, Geny B, Piquard F, Simon C (2003). Age-related changes in cardiac autonomic control during sleep. *J Sleep Res*, 12: 173-180.
- Brandt J, Aretouli E, Neijstrom E, Samek J, Manning K, Albert MS, Bandeen-Roche K (2009). Selectivity of executive function deficits in mild cognitive impairment. *Neuropsychology*, 23: 607-618.
- Briggs A (1961). The Welfare State in historical Perspective. *Arch Eur Sociol*, 2: 221-258.
- Browman CP, Cartwright RD (1980). The first-night effect on sleep and dreams. *Biol Psychiatry*, 15: 809-812.
- Buckner RL (2004). Memory and executive function in aging and AD: Multiple factors that cause decline and reserve factors that compensate. *Neuron*, 44: 195-208.
- Buell SJ, Coleman PD (1981). Quantitative evidence for selective dendritic growth in normal human aging but not in senile dementia. *Brain Research*, 214: 23-41.
- Buijs RM, Kalsbeek A (2001). Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. *Nat Rev Neurosci*, 2: 521-526.
- Burke DM, Shafro MA (2008). Language and aging. In: Craik F, Salthouse T, editors. The handbook of aging and cognition, *New York: Psychology Press*. pp. 373-443
- Busse A, Angermeyer MC, Riedel-Heller SG (2006). Progression of mild cognitive impairment to dementia: a challenge to current thinking. *Br J Psychiatry*, 189: 399-404.
- Busse A, Bischof J, Riedel-Heller SG, Angermeyer MC, Leipzig Longitudinal Study of the Aged LEILA75+ (2003). Mild cognitive impairment: prevalence and predictive validity according to current approaches. *Acta Neurol Scand*, 108: 71-81.
- Buzsáki G (1989). Two-stage model of memory trace formation: a role for "noisy" brain states. *Neuroscience*, 31:551-570.
- Calhoun DA, Harding SM (2010) Sleep and hypertension. *Chest*, 138: 434-443.
- Campbell SS, Murphy PJ (2007). The nature of spontaneous sleep across adulthood. *J Sleep Res*, 16: 24-32.
- Chance SA, Clover L, Cousijn H, Currah L, Pettingill R, Esiri MM (2011). Microanatomical correlates of cognitive ability and decline: normal ageing, MCI, and Alzheimer's disease. *Cereb Cortex*, 21: 1870-1878.
- Chao LL, Knight RT (1997). Prefrontal deficits in attention and inhibitory control with aging. *Cereb Cortex*, 7: 63-69.
- Chen Q, Hayman LL, Shmerling RH, Bean JF, Leveille SG (2011). Characteristics of chronic pain associated with sleep difficulty in older adults: The Maintenance of Balance, Independent Living, Intellect, and Zest in the Elderly (MOBILIZE) Boston study. *J Am Geriatr Soc*, 59: 1385-1392.
- Chervin RD, Guilleminault C (1996). Overestimation of sleep latency by patients with suspected hypersomnolence. *Sleep*, 19: 94-100.

- Cho H, Yang DW, Shon YM, Kim BS, Kim YI, Choi YB, Lee KS, Shim YS, Yoon B, Kim W, *et al.* (2008). Abnormal integrity of corticocortical tracts in mild cognitive impairment: a diffusion tensor imaging study. *J Korean Med Sci*, 23: 477-483.
- Chou TC, Scammell TE, Gooley JJ, Gaus SE, Saper CB, Lu J (2003). Critical role of dorsomedial hypothalamic nucleus in a wide range of behavioral circadian rhythms. *J Neurosci*, 23: 10691-10702.
- Chua TC, Wen W, Chen X, Kochan N, Slavin MJ, Trollor JN, Brodaty H, Sachdev PS (2009). Diffusion tensor imaging of the posterior cingulate is a useful biomarker of mild cognitive impairment. *Am J Geriatr Psychiatry*, 17: 602-613.
- Chugh DK, Weaver TE, Dinges DF (1996). Neurobehavioral consequences of arousals. *Sleep*, 19: 198-201.
- Clague F, Graham KS, Thompson SA, Hodges JR (2011). Is knowledge of famous people compromised in mild cognitive impairment?. *Cogn Behav Neurol*, 24: 134-144.
- Clark LJ, Gatz M, Zheng L, Chen YL, McCleary C, Mack WJ (2009). Longitudinal verbal fluency in normal aging, preclinical, and prevalent Alzheimer's disease. *Am J Alzheimers Dis Other Dement*, 24: 461-468.
- Coleman PD, Flood DG (1987). Neuron numbers and dendritic extent in normal aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 8: 521-545.
- Collette F, Schmidt C, Scherrer C, Adam S, Salmon E (2009). Specificity of inhibitory deficits in normal aging and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 30: 875-889.
- Consejo de Europa (1998). Recomendación Nº (98) 9 del Comité de Ministros a los Estados Miembros relativa a la Dependencia.
- Consejo Superior de Investigaciones Científicas (2010). Informe sobre envejecimiento.
- Cooke JR, Ancoli-Israel S (2006). Sleep and its disorders in older adults. *Psychiatr Clin North Am*, 29: 1077-1093.
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*, 261: 921-923.
- Corsi-Cabrera M (1983). Psicofisiología del sueño, *Editorial Trillas: México*.
- Counts SE, Nadeem M, Lad SP, Wu J, Mufson EJ (2006). Differential expression of synaptic proteins in the frontal and temporal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment. *J Neuropathol Exp Neurol*, 65: 592-601.
- Coyle JT, Price DL, DeLong MR (1983). Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science*, 219: 1184-1190.
- Craik FIM, Byrd M (1982). Aging and cognitive deficits: The role of attentional resources. In: Craik FIM, Treub SE, editors. Aging and cognitive processes, *New York: Plenum*. pp. 191-211.
- Craik FI, Rose NS (2011). Memory encoding and aging: A neurocognitive perspective. *Neurosci Biobehav Rev*, 36: 1729-1739.
- Crespo-Garcia M, Cantero JL, Atienza M (2012). Effects of semantic relatedness on age-related associative memory deficits: The role of theta oscillations. *Neuroimage*, 61: 1235-1248.
- Crespo-Santiago D (2006). Biogerontología, *Santander: Universidad de Cantabria*.
- Crook TH, West RL (1990). Name recall performance across the adult life-span. *Br J Psychol*, 81: 335-351.
- Cuetos F, Martinez T, Martinez C, Izura C, Ellis AW (2003). Lexical processing in Spanish patients with probable Alzheimer's disease. *Brain Res Cogn Brain Res*, 17: 549-561.

- Curtis H (1963). Biological mechanisms underlying the aging process. *Science*, 141: 686-694.
- Damasceno BP (1999). Brain aging. The problem of differential diagnosis between normal and pathologic. *Arq Neuropsiquiatr*, 57: 78-83.
- Dannhauser TM, Walker Z, Stevens T, Lee L, Seal M, Shergill SS (2005). The functional anatomy of divided attention in amnesic mild cognitive impairment. *Brain*, 128: 1418-1427.
- Darwin C (1872). On the origin of species (6^a ed.), Londres: John Murray.
- Davis PJM, Wright EA (1977). A new method for measuring cranial cavity volume and its application to the assessment of cerebral atrophy at autopsy. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 3: 341-358.
- Dayan AD (1970). Quantitative histological studies on the aged human brain. *Acta Neuropathol*, 16: 95-102.
- De Brabander JM, Kramers RJ, Uylings HB (1998). Layer-specific dendritic regression of pyramidal cells with aging in human prefrontal cortex. *Eur J Neurosci*, 10: 1261-1269.
- De Toledo-Morrell L, Goncharova I, Dickerson B, Wilson RS, Bennett DA (2000). From healthy aging to early Alzheimer's disease: in vivo detection of entorhinal cortex atrophy. *Ann N Y Acad Sci*, 911: 240-253.
- Dekaban AS, Sadowsky D (1978). Changes in brain weights during the span of human life: relation of brain weights to body heights and body weights. *Ann Neurol*, 4: 345-356.
- Deurveilher S, Burns J, Semba K (2002). Indirect projections from the suprachiasmatic nucleus to the ventrolateral preoptic nucleus: a dual tract-tracing study in rat. *Eur J Neurosci*, 16: 1195-1213.
- Di Lulio F, Palmer K, Blundo C, Casini AR, Gianni W, Caltagirone C, Spalletta G (2010). Occurrence of neuropsychiatric symptoms and psychiatric disorders in mild Alzheimer's disease and mild cognitive impairment subtypes. *Int Psychogeriatr*, 22: 629-640.
- Dickstein DL, Kabaso D, Rocher AB, Luebke JI, Wearne SL, Hof PR (2007). Changes in the structural complexity of the aged brain. *Aging Cell*, 6: 275-284.
- Diekelmann S, Born J (2010). The memory function of sleep. *Nat Rev Neurosci*, 11: 114-126.
- Djojosebrotto MW, Choi YS, Lee HW, Rudolph KL (2003). Telomeres and telomerase in aging, regeneration and cancer. *Mol Cells*, 15: 164-175.
- Domoto-Reilly K, Sapolsky D, Brickhouse M, Dickerson BC, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2012). Naming impairment in Alzheimer's disease is associated with left anterior temporal lobe atrophy. *Neuroimage*, 63: 348-355.
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, Delacourte A, Galasko D, Gauthier S, Jicha G, et al. (2007). Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol*, 6: 734-746.
- Dudas RB, Clague F, Thompson SA, Graham KS, Hodges JR (2005). Episodic and semantic memory in mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*, 43: 1266-1276.
- Duong A, Whitehead V, Hanratty K, Chertkow H (2006). The nature of lexico-semantic processing deficits in mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*, 44: 1928-1935.
- Eckert MA (2011). Slowing down: Age-related neurobiological predictors of processing speed. *Front Neurosci*, 5: 1-13.
- Edwards ER, Spira AP, Barnes DE, Yaffe K (2009). Neuropsychiatric symptoms in mild cognitive impairment: differences by subtype and progression to dementia. *Int J Geriatr Psychiatry*, 24: 716-722.

- Ellison JM, Harper DG, Berlow Y, Zeranski L (2008). Beyond the "C" in MCI: noncognitive symptoms in amnestic and non-amnestic mild cognitive impairment. *CNS Spectr*, 13: 66-72.
- Elwood PC, Bayer AJ, Fish M, Pickering J, Mitchell C, Gallacher JE (2011). Sleep disturbance and daytime sleepiness predict vascular dementia. *J Epidemiol Community Health*, 65: 820-824.
- Emery OB (1986). Linguistic decrement in normal aging. *Lang Commun*, 2: 7-64.
- Empana JP, Dauvilliers Y, Dartigues JF, Ritchie K, Gariepy J, Jouven X, Tzourio C, Amouyel P, Besset A, Ducimetiere P (2009). Excessive daytime sleepiness is an independent risk indicator for cardiovascular mortality in community-dwelling elderly: the three city study. *Stroke*, 40: 1219-1224.
- Eschenko O, Sara SJ (2008). Learning-dependent, transient increase of activity in noradrenergic neurons of locus coeruleus during slow wave sleep in the rat: brain stem-cortex interplay for memory consolidation?. *Cereb Cortex*, 18: 2596-2603.
- Esiri MM (2007). Ageing and the brain. *J Pathol*, 211: 181-187.
- Eurostat (2011). Europe in figures. Eurostat yearbook.
- Eurostat (2010). Europe in figures. Eurostat yearbook.
- Eurostat (2008). Europe in figures. Eurostat yearbook.
- Evrard M (2002). Ageing and lexical access to common and proper names in picture naming. *Brain Lang*, 81: 174-179.
- Farias ST, Mungas D, Reed BR, Harvey D, DeCarli C (2009). Progression of mild cognitive impairment to dementia in clinic- vs community-based cohorts. *Arch Neurol*, 66: 1151-1157.
- Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA (1987). MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *Am J Roentgenol*, 149: 351-356.
- Feinberg I, Koresko RL, Heller N (1967). EEG sleep patterns as a function of normal and pathological aging in man. *Psychiatry Res*, 5: 107-144.
- Feldman HH, Jacova C (2007). Primary prevention and delay of onset of AD/dementia. *Can J Neurol Sci*, 34: 84-89.
- Feldman HH, Jacova C (2005). Mild cognitive impairment. *Am J Geriatr Psychiatry*, 13: 645-655.
- Fellgiebel A, Müller MJ, Wille P, Dellani PR, Scheurich A, Schmidt LG, Stoeter P (2005). Color-coded diffusion-tensor-imaging of posterior cingulate fiber tracts in mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging*, 26: 1193-1198.
- Fennema-Notestine C, Hagler DJ Jr, McEvoy LK, Fleisher AS, Wu EH, Karow DS, Dale AM, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2009). Structural MRI biomarkers for preclinical and mild Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp*, 30: 3238-3253.
- Ferini-Strambi L, Baietto C, Di Gioia MR, Castaldi P, Castronovo C, Zucconi M, Cappa SF (2003). Cognitive dysfunction in patients with obstructive sleep apnea (OSA): partial reversibility after continuous positive airway pressure (CPAP). *Brain Res Bull*, 61: 87-92.
- Ferrer M, Vilagut G, Monasterio C, Montserrat JM, Mayos M, Alonso J (1999). Measurement of the perceived impact of sleep problems: the Spanish version of the functional outcomes sleep questionnaire and the Epworth sleepiness scale. *Med Clin (Barc)*, 113: 250-255.
- Fjell AM, Walhovd KB, Fennema-Notestine C, McEvoy LK, Hagler DJ, Holland D, Brewer JB, Dale AM (2009). One-year brain atrophy evident in healthy aging. *J Neurosci*, 29: 15223-15231.
- Fjell AM, Walhovd KB (2010). Structural brain changes in aging: Courses, causes and cognitive consequences. *Rev Neurosci*, 21: 187-221.

- Fleming JE, Miquel J, Cottrell SF, Yengoyan LS, Economos AC (1982). Is cell aging caused by respiration-dependent injury to the mitochondrial genome?. *Gerontology*, 28: 44-53.
- Flicker C, Ferris SH, Reisberg B (1991). Mild cognitive impairment in the elderly: predictors of dementia. *Neurology*, 41: 1006-1009.
- Foley D, Ancoli-Israel S, Britz P, Walsh J (2004). Sleep disturbances and chronic disease in older adults: Results of the 2003 National Sleep Foundation Sleep in America Survey. *J Psychosom Res*, 56: 497-502.
- Foley DJ, Monjan AA, Brown SL, Simonsick EM, Wallace RB, Blazer DG (1995). Sleep complaints among elderly persons: An epidemiologic study of three communities. *Sleep*, 18: 425-432.
- Foley DJ, Monjan A, Simonsick EM, Wallace RB, Blazer DG (1999). Incidence and remission of insomnia among elderly adults: An epidemiologic study of 6,800 persons over three years. *Sleep*, 22: 366-372.
- Forsell Y, Palmer K, Fratiglioni L (2003). Psychiatric symptoms/syndromes in elderly persons with mild cognitive impairment. Data from a cross-sectional study. *Acta Neurol Scand Suppl*, 179: 25-28.
- Fouquet M, Desgranges B, La Joie R, Rivière D, Mangin JF, Landeau B, Mézenge F, Pélerin A, de La Sayette V, Viader F, *et al.* (2012). Role of hippocampal CA1 atrophy in memory encoding deficits in amnesic Mild Cognitive Impairment. *Neuroimage*, 59: 3309-3315.
- Franceschi C, Bonafè M (2003). Centenarians as a model for healthy aging. *Biochem Soc Trans*, 31: 457-461.
- Franceschi C, Mota L, Valensin S, Rapisarda R, Franzone A, Berardelli M, Motta M, Monti D, Bonafè M, Ferrucci L, *et al.* (2000). Do men and women follow different trajectories to reach extreme longevity?. *Aging (Milano)*, 12: 77-84.
- Fridovich I (1978). The biology of oxygen radicals. *Science*, 201: 875-880.
- Frings L, Klöppel S, Teipel S, Peters O, Frölich L, Pantel J, Schröder J, Gertz HJ, Arlt S, Heuser I, *et al.* (2011). Left anterior temporal lobe sustains naming in Alzheimer's dementia and mild cognitive impairment. *Curr Alzheimer Res*, 8: 893-901.
- Frisoni GB, Galluzzi S, Signorini M, Garibotto V, Paghera B, Binetti G, Canu E, Geroldi C, Perani D (2010). Preliminary evidence of validity of the revised criteria for Alzheimer disease diagnosis: report of 2 cases. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 24: 108-114.
- Gagnon LG, Belleville S (2011). Working memory in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: contribution of forgetting and predictive value of complex span tasks. *Neuropsychology*, 25: 226-236.
- Gagnon JF, Postuma RB, Mazza S, Doyon J, Montplaisir J (2006). Rapid-eye-movement sleep behaviour disorder and neurodegenerative diseases. *Lancet Neurol*, 5: 424-432.
- Gais S, Albouy G, Boly M, Dang-Vu TT, Darsaud A, Desseilles M, Rauchs G, Schabus M, Sterpenich V, Vandewalle G *et al.* (2007). Sleep transforms the cerebral trace of declarative memories. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 18778-18783.
- Gais S, Born J (2004) Low acetylcholine during slow-wave sleep is critical for declarative memory consolidation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 2140-2144.
- Gais S, Lucas B, Born J (2006). Sleep after learning aids memory recall. *Learn Mem*, 13: 259-262.
- Gallassi R, Bisulli A, Oppi F, Poda R, Di Felice C (2008). Subjective cognitive complaints, neuropsychological performance, affective and behavioural symptoms in non-demented patients. *Int J Geriatr Psychiatry*, 23: 95-101.

- Gandy S (2005). The role of cerebral amyloid β accumulation in common forms of Alzheimer disease. *J Clin Invest*, 115: 1121-1129.
- Ganguli M, Reynolds CF, Gilby JE (1996). Prevalence and persistence of sleep complaints in a rural older community sample: the MoVIES project. *J Am Geriatr Soc*, 44: 778-784.
- Ganguli M, Snitz BE, Saxton JA, Chang C-CH, Lee C-W, Vander-Bilt J, Hughes TF, Loewenstein DA, Unverzagt FW, Petersen RC (2011). Outcomes of mild cognitive impairment depend on definition: a population study. *Arch Neurol*, 68: 761-767.
- Gao S, Hendrie HC, Hall KS, Hui S (1998). The relationships between age, sex, and the incidence of dementia and Alzheimer disease: A meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry*, 55: 809-815.
- Gauthier S, Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K, Broich K, Belleville S, Brodaty H, Bennett D, Chertkow H, et al. (2006). Mild cognitive impairment. *Lancet*, 367: 1262-1270.
- Geda YE, Roberts RO, Knopman DS, Petersen RC, Christianson TJ, Pankratz VS, Smith GE, Boeve BF, Ivnik RJ, Tangalos EG, et al. (2008). Prevalence of neuropsychiatric symptoms in mild cognitive impairment and normal cognitive aging: population-based study. *Arch Gen Psychiatry*, 65: 1193-1198.
- Geda YE, Smith GE, Knopman DS, Boeve BF, Tangalos EG, Ivnik RJ, Mrazek DA, Edland SD, Petersen RC (2004). De novo genesis of neuropsychiatric symptoms in Mild Cognitive Impairment (MCI). *Int Psychogeriatr*, 16: 51-60.
- Gerstner JR, Perron IJ, Pack AI (2012). The nexus of A β , aging, and sleep. *Sci Transl Med*, 4, 150fs34: 1-3.
- Geslani D, Tierney MC, Herrmann N, Szalai J (2005). Mild cognitive impairment: an operational definition and its conversion rate to Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 19: 383-389.
- Giannakouris K (2008). Ageing characterises the demographic perspectives of the European societies. *Eurostat Statistics in focus*, 72: 1-11.
- Gibson EM, Williams WP 3rd, Kriegsfeld LJ (2009). Aging in the circadian system: Considerations for health, disease prevention and longevity. *Exp Gerontol*, 44: 51-56.
- Giess R, Schlote W (1995). Localisation and association of pathomorphological changes at the brainstem in Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev*, 84: 209-226.
- Glisky EL (2007). Changes in cognitive function in human aging. In: Riddle DR, editors. Brain aging: models, methods and mechanisms, New York: CRC. pp. 3-17.
- Gómez-Isla T, Price JL, McKeel Jr DW, Morris JC, Growdon JH, Hyman BT (1996). Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 16: 4491-4500.
- Grady CL, Haxby JV, Horwitz B, Sundaram M, Berg G, Schapiro M, Friedland RP, Rapoport SI (1988). Longitudinal study of the early neuropsychological and cerebral metabolic changes in dementia of the Alzheimer type. *J Clin Exp Neuropsychol*, 10: 576-596.
- Graves L, Pack A, Abel T (2001). Sleep and memory: a molecular perspective. *Trends Neurosci*, 24: 237-243.
- Greene JD, Baddeley AD, Hodges JR (1996). Analysis of the episodic memory deficit in early Alzheimer's disease: evidence from the doors and people test. *Neuropsychologia*, 34: 537-551.
- Greenway MC, Lacritz LH, Binegar D, Weiner MF, Lipton A, Murro Cullum C (2006). Patterns of verbal memory performance in mild cognitive impairment, Alzheimer disease, and normal aging. *Cogn Behav Neurol*, 10: 79-84.

- Grossman M (2003). Neural basis for semantic memory difficulty in Alzheimer's disease: An fMRI study. *Brain*, 126: 292-311.
- Grothe M, Zaborszky L, Atienza M, Gil-Neciga E, Rodriguez-Romero R, Teipel SJ, Amunts K, Suarez-Gonzalez A, Cantero JL (2010). Reduction of basal forebrain cholinergic system parallels cognitive impairment in patients at high risk of developing Alzheimer's disease. *Cereb Cortex*, 20: 1685-1695.
- Guillozet AL, Weintraub S, Mash DC, Mesulam MM (2003). Neurofibrillary tangles, amyloid, and memory in aging and mild cognitive impairment. *Arch Neurol*, 60: 729-736.
- Gunning-Dixon FM, Raz N (2000). The cognitive correlates of white matter abnormalities in normal aging: a quantitative review. *Neuropsychology*, 14: 224-232.
- Hempel H, Bürger K, Teipel SJ, Bokde AL, Zetterberg H, Blennow K (2008). Core candidate neurochemical and imaging biomarkers of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 4: 38-48.
- Hanninen T, Koivisto K, Reinikainen KJ, Helkala EL, Soininen H, Mykkänen L, Laakso M, Riekkinen PJ (1996). Prevalence of ageing-associated cognitive decline in an elderly population. *Age Ageing*, 25: 201-205.
- Harley CB, Futcher AB, Greider CW (1990). Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*, 345: 458-460.
- Harman D (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*, 11: 298-300.
- Harold D, Abraham R, Hollingworth P, Sims R, Gerrish A, Hamshere ML, Pahwa JS, Moskvina V, Dowzell K, Williams A, *et al.* (2009). Genome-wide association study identifies variants at CLU and PICALM associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet*, 41: 1088-1093.
- Haroutunian V, Hoffman LB, Beeri MS (2009). Is there a neuropathology difference between mild cognitive impairment and dementia?. *Dialogues Clin Neurosci*, 11: 171-179.
- Harrington JJ, Lee-Chiong T Jr (2007). Sleep and older patients. *Clin Chest Med*, 28: 673-684.
- Hart RW, Setlow RB (1974). Correlation between deoxyribonucleic acid excision-repair and life-span in a number of mammalian species. *Proc Natl Acad Sci USA*, 71: 2169-2173.
- Hasher L, Zacks RT (1988). Working memory, comprehension, and aging: A review and a new view. In: Bower GH, editor. *The psychology of learning and motivation*, New York: Academic Press. pp. 193-225.
- Hasselmo ME (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Cur Opin Neurobiol*, 16: 710-715.
- Hayflick L (1980) Cell aging. *Annu Rev Gerontol Geriatr*, 1: 26-67.
- Hebert LE, Scherr PA, Beckett LA, Albert MS, Pilgrim DM, Chown MJ, Funkenstein HH, Evans DA (1995). Age-specific incidence of Alzheimer's disease in a community population. *JAMA*, 273: 1354-1359.
- Hiona A, Leeuwenburgh C (2008). The role of mitochondrial DNA mutations in aging and sarcopenia: implications for the mitochondrial vicious cycle theory of aging. *Exp Gerontol*, 43: 24-33.
- Hita-Yáñez E, Atienza M, Cantero JL (2013). Polysomnographic and subjective sleep markers of mild cognitive impairment. *Sleep*, 36: 1327-1334.
- Hita-Yáñez E, Atienza M, Gil-Neciga E, Cantero JL (2012). Disturbed sleep patterns in elders with mild cognitive impairment: The role of memory decline and ApoE ϵ 4 genotype. *Curr Alzheimer Res*, 9: 290-297.
- Holland CA, Rabbit PM (1990). Autobiographical and test recall in the elderly: An investigation of a processing resource deficit. *Q J Exp Psychol (Hove)*, 42: 441-471.

- Hollingworth P, Harold D, Sims R, Gerrish A, Lambert JC, Carrasquillo MM, Abraham R, Hamshere ML, Pahwa JS, Moskvina V, *et al.* (2011). Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet*, 43: 429-435.
- Holz J, Piosczyk H, Feige B, Spiegelhalder K, Baglioni C, Riemann D, Nissen C (2012). EEG Σ and slow-wave activity during NREM sleep correlate with overnight declarative and procedural memory consolidation. *J Sleep Res*, 21: 612-619.
- Hoogendijk WJ, van Someren EJ, Mirmiran M, Hofman MA, Lucassen PJ, Zhou JN, Swaab DF (1996). Circadian rhythm-related behavioral disturbances and structural hypothalamic changes in Alzheimer's disease. *Int Psychogeriatr*, 3: 245-252.
- Hu S, Chao HH, Zhang S, Ide JS, Li CS (en prensa). Changes in cerebral morphometry and amplitude of low-frequency fluctuations of BOLD signals during healthy aging: correlation with inhibitory control. *Brain Struct Funct*.
- Huang J, Friedland RP, Auchus AP (2007). Diffusion tensor imaging of normal-appearing white matter in mild cognitive impairment and early Alzheimer disease: preliminary evidence of axonal degeneration in the temporal lobe. *AJNR Am J Neuroradiol*, 28: 1943-1948.
- Huang Y, Potter R, Sigurdson W, Santacruz A, Shih S, Ju YE, Kasten T, Morris JC, Mintun M, Duntley S, *et al.* (2012). Effects of age and amyloid deposition on A β dynamics in the human central nervous system. *Arch Neurol*, 69: 51-58.
- Hubbard BM, Anderson JM (1981). A quantitative study of cerebral atrophy in old age and senile dementia. *J Neurol Sci*, 50: 135-145.
- Huber R, Ghilardi MF, Massimini M, Tononi G (2004). Local sleep and learning. *Nature*, 430: 78-81.
- Hughes CP, Berg L, Danzler WL (1982). A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiatry*, 140: 566-572.
- Hughes EJ, Bond J, Svrckova P, Makropoulos A, Ball G, Sharp DJ, Edwards AD, Hajnal JV, Counsell SJ (2012). Regional changes in thalamic shape and volume with increasing age. *Neuroimage*, 63: 1134-1142.
- Hughes KA, Reynolds RM (2005). Evolutionary and mechanistic theories of aging. *Annu Rev Entomol*, 50: 421-445.
- Ikonomic MD, Mufson EJ, Wu J, Cochran EJ, Bennett DA, DeKosky ST (2003). Cholinergic plasticity in hippocampus of individuals with mild cognitive impairment: correlation with Alzheimer's neuropathology. *J Alzheimers Dis*, 5: 39-48.
- Instituto Nacional de Estadística (2011). Proyección de la Población de España a Corto Plazo 2010–2020.
- Instituto Nacional de Estadística (2010). Proyección de la Población de España a Largo Plazo 2009–2049.
- Jack CR Jr, Lowe VJ, Senjem ML, Weigand SD, Kemp BJ, Shiung MM, Knopman DS, Boeve BF, Klunk WE, Mathis CA, *et al.* (2008). 11C PiB and structural MRI provide complementary information in imaging of Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Brain*, 131: 665-680.
- Jacobs B, Driscoll L, Schall M (1997). Life-span dendritic and spine changes in areas 10 and 18 of human cortex: a quantitative Golgi study. *J Comp Neurol*, 386: 661-680.
- Jasper HH (1958). Report of the committee on methods of clinical examination in electroencephalography. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 10: 370-371.

- Jaussent I, Bouyer J, Ancelin ML, Berr C, Foubert-Samier A, Ritchie K, Ohayon MM, Besset A, Dauvilliers Y (2012). Excessive sleepiness is predictive of cognitive decline in the elderly. *Sleep*, 35: 1201-1207.
- Jayanthi P, Joshua E, Ranganathan K (2010). Ageing and its implications. *J Oral Maxillofac Pathol*, 14: 48-51.
- Joubert S, Brambati SM, Ansado J, Barbeau EJ, Felician O, Didic M, Lacombe J, Goldstein R, Chayer C, Kergoat MJ (2010). The cognitive and neural expression of semantic memory impairment in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neuropsychologia*, 48: 978-988.
- Joubert S, Felician O, Barbeau EJ, Didic M, Poncet M, Ceccaldi M (2008). Patterns of semantic memory impairment in Mild Cognitive Impairment. *Behav Neurol*, 19: 35-40.
- Ju YE, McLeland JS, Toedebusch CD, Xiong C, Fagan AM, Duntley SP, Morris JC, Holtzman DM (2013). Sleep quality and preclinical Alzheimer's disease. *JAMA Neurol*, 11: 1-7.
- Juncos-Rabadán O (1996). Narrative speech in the elderly: Effects of age and education on telling stories. *Int J Behav Dev*, 19: 669-685.
- Kang JE, Lim MM, Bateman RJ, Lee JJ, Smyth LP, Cirrito JR, Fujiki N, Nishino S, Holtzman DM (2009). Amyloid- β dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. *Science*, 326: 1005-1007.
- Kanungo MS (1975). A model for ageing. *J Theor Biol*, 53: 253-261.
- Katayama T, Imaizumi K, Sato N, Miyoshi K, Kudo T, Hitomi J, Morihara T, Yoneda T, Gomi F, Mori Y, *et al.* (1999). Presenilin-1 mutations downregulate the signalling pathway of the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol*, 1: 479-485.
- Kaushal N, Ramesh V, Gozal D (2012). Human apolipoprotein E4 targeted replacement in mice reveals increased susceptibility to sleep disruption and intermittent hypoxia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 303: 19-29.
- Keage HA, Banks S, Yang KL, Morgan K, Brayne C, Matthews FE (2012). What sleep characteristics predict cognitive decline in the elderly?. *Sleep Med*, 13: 886-892.
- Kemmotsu N, Girard HM, Kucukboyaci NE, McEvoy LK, Hagler DJ Jr, Dale AM, Halgren E, McDonald CR (2012). Age-related changes in the neurophysiology of language in adults: Relationship to regional cortical thinning and white matter microstructure. *J Neurosci*, 32: 12204-12213.
- Kemppainen NM, Aalto S, Wilson IA, Någren K, Helin S, Brück A, Oikonen V, Kailajärvi M, Scheinin M, Viitanen M, *et al.* (2007). PET amyloid ligand [^{11}C] PIB uptake is increased in mild cognitive impairment. *Neurology*, 68: 1603-1606.
- Kim J, Basak JM, Holtzman DM (2009). The Role of Apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron*, 63: 287-303.
- Kirkwood TBL, Austad SN (2000). Why do we age?. *Nature*, 408: 233-238.
- Koivunen J, Karrasch M, Scheinin NM, Aalto S, Vahlberg T, Någren K, Helin S, Viitanen M, Rinne JO (2012). Cognitive decline and amyloid accumulation in patients with mild cognitive impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 34: 31-37.
- Koivunen J, Scheinin N, Virta JR, Aalto S, Vahlberg T, Någren K, Helin S, Parkkola R, Viitanen M, Rinne JO (2011). Amyloid PET imaging in patients with mild cognitive impairment: a 2-year follow-up study. *Neurology*, 76: 1085-1090.
- Kordower JH, Chu Y, Stebbins GT, DeKosky ST, Cochran EJ, Bennett D, Mufson EJ (2001). Loss and atrophy of layer II entorhinal cortex neurons in elderly people with mild cognitive impairment. *Ann Neurol*, 49: 202-213.

- Kourtis N, Tavernarakis N (2011). Cellular stress response pathways and ageing: intricate molecular relationships. *EMBO J*, 30: 2520-2531.
- Kripke DF, Garfinkel L, Wingard D, Klauber MR, Marter MR (2002). Mortality associated with sleep duration and insomnia. *Arch Gen Psychiatry*, 59: 131-136.
- Kristal BS, Yu BP (1992). An emerging hypothesis: synergistic induction of aging by free radicals and Maillard reactions. *J Gerontol*, 47: 107-114.
- Labeaga J (2008). Estudios sobre las decisiones de retiro, la sostenibilidad del sistema de pensiones en España y la viabilidad financiera del Sistema Nacional de Dependencia. Colección Estudios Económicos 04-08 Cátedra Nuevos Consumidores/FEDEA-BB.
- Lambert JC, Amouyel P (2011). Genetics of Alzheimer's disease: new evidences for an old hypothesis?. *Curr Opin Genet Dev*, 21: 295-301.
- Lambert JC, Heath S, Even G, Campion D, Sleegers K, Hiltunen M, Combarros O, Zelenika D, Bullido MJ, Tavernier B, *et al.* (2009). Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet*, 41: 1094-1099.
- Larsen LH, Moe KE, Vitiello MV, Prinz PN (1995). A note on the night-to-night stability of stages 3 + 4 sleep in healthy older adults: a comparison of visual and spectral evaluations of stages 3 + 4 sleep. *Sleep*, 18: 7-10.
- Lee KS, Cho HS, Hong CH, Kim DG, Oh BH (2008). Differences in neuropsychiatric symptoms according to mild cognitive impairment subtypes in the community. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 26: 212-217.
- Levine RL, Stadtman ER (1996). Protein modifications with aging. In: Schneider EL, Rowe JW, editors. Handbook of the biology of aging, *San Diego (CA): Academic Press*. pp. 184-197.
- Libro blanco sobre envejecimiento activo (2011). In: Causapié-Lopesino, P, Balbontín-López-Cerón A, Porras-Muñoz M, Mateo-Echanagorria A, editors. Madrid: *Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad, Secretaría General de Política Social y Consumo, Instituto de Mayores y Servicios Sociales (IMSERSO)*.
- Light LL (1992). The organization of memory in old age. In: Craik FIM, Salthouse TA, editors. The handbook of aging and cognition, *Hillsdale, NJ, England: Lawrence Erlbaum Associates*. pp. 111-165.
- Lim AS, Yu L, Costa MD, Leurgans SE, Buchman AS, Bennett DA, Saper CB (2012). Increased fragmentation of rest-activity patterns is associated with a characteristic pattern of cognitive impairment in older individuals. *Sleep*, 35: 633-640B.
- Lindholm D, Wootz H, Korhonen L (2006). ER stress and neurodegenerative diseases. *Cell Death Differ*, 13: 385-392.
- Lobo A, Escoba V, Exquerra J, Sevar Díaz A (1979). Mini-Examen Cognoscitivo: Un test sencillo, práctico, para detectar alteraciones intelectuales en pacientes psiquiátricos. *Actas Luso Esp Neurol Psiquia Cienc Afines*, 3: 189-202.
- Lobo A, López-Antón R, de-la-Cámara C, Quintanilla MA, Campayo A, Saz P, ZARADEMP Workgroup (2008). Non-cognitive psychopathological symptoms associated with incident mild cognitive impairment and dementia, Alzheimer's type. *Neurotox Res*, 14: 263-272.
- Loewenstein RJ, Weingartner H, Gillin JC, Kaye W, Ebert M, Mendelson WB (1982). Disturbances of sleep and cognitive functioning in patients with dementia. *Neurobiol Aging*, 3: 371-377.
- López OL, Becker JT, Sweet RA (2005). Non-cognitive symptoms in mild cognitive impairment subjects. *Neurocase*, 11: 65-71.
- Lorenzo A, Yankner BA (1994). Beta-amyloid neurotoxicity requires fibril formation and is inhibited by congo red. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91: 12243-12247.

- Lyketsos CG, Lopez O, Jones B, Fitzpatrick AL, Breitner J, DeKosky S (2002). Prevalence of neuropsychiatric symptoms in dementia and mild cognitive impairment: results from the cardiovascular health study. *JAMA*, 288: 1475-1483.
- Mackay A, Connor L, Albert M, Obler L (2002). Noun and verb retrieval in healthy aging. *J Int Neuropsychol Soc*, 8: 764-770.
- Markesbery WR (2010). Neuropathologic alterations in mild cognitive impairment: a review. *J Alzheimers Dis*, 19: 221-228.
- Markesbery WR, Schmitt FA, Kryscio RJ, Davis DG, Smith CD, Wekstein DR (2006). Neuropathologic substrate of mild cognitive impairment. *Arch Neurol*, 63: 38-46.
- Marshall GA, Rentz DM, Frey MT, Locascio JL, Johnson KA, Sperling RA, the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2011). Executive function and instrumental activities of daily living in MCI and AD. *Alzheimers Dement*, 7: 300-308.
- Martínez-Noval L, Sáenz de Jubera P (2009). El futuro ya no es lo que era. Las proyecciones de la Seguridad Social. *Revista del Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales*, 79: 13-43.
- Mathieu A, Mazza S, Décary A, Massicotte-Marquez J, Petit D, Gosselin N, Malo J, Montplaisir J (2008). Effects of obstructive sleep apnea on cognitive function: a comparison between younger and older OSAS patients. *Sleep Med*, 9: 112-120.
- Mayes A, Montaldi D, Migo E (2007). Associative memory and the medial temporal lobe. *Trends Cogn Sci*, 11: 126-135.
- McDermott CM, LaHoste GJ, Chen C, Musto A, Bazan NG, Magee JC (2003). Sleep deprivation causes behavioral, synaptic, and membrane excitability alterations in hippocampal neurons. *J Neurosci*, 23: 9687-9695.
- McGeer PL, McGeer EG, Suzuki J, Dolman CE, Nagai T (1984). Aging, Alzheimer's disease, and the cholinergic system of the basal forebrain. *Neurology*, 34: 741-745.
- Mielke MM, Kozauer NA, Chan KC, George M, Toroney J, Zerrate M, Bandeen-Roche K, Wang MC, Vanzijl P, Pekar JJ, *et al.* (2009). Regionally-specific diffusion tensor imaging in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neuroimage*, 46: 47-55.
- Miettinen PS, Pihlajamäki M, Jauhiainen AM, Niskanen E, Hänninen T, Vanninen R, Soininen H (2011). Structure and function of medial temporal and posteromedial cortices in early Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci*, 34: 320-330.
- Miller S, Dykes D, Polesky H (1988). A simple Salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research*, 16: 1215.
- Miyata S, Noda A, Iwamoto K, Kawano N, Okuda M, Ozaki N (2013). Poor sleep quality impairs cognitive performance in older adults. *J Sleep Res*, 22: 535-541.
- Mizuno S, Kameda A, Inagaki T, Horiguchi J (2004). Effects of donepezil on Alzheimer's disease: the relationship between cognitive function and rapid eye movement sleep. *Psychiatry Clin Neurosci*, 58: 660-665.
- Mobbs CV (1966). Neuroendocrinology of aging. In: Schneider EL, Rowe JW, editors. Handbook of the biology of aging, *San Diego (CA): Academic Press*. pp. 234-282.
- Moe KE, Vitiello MV, Larsen LH, Prinz PN (1995). Sleep/wake patterns in Alzheimer's disease: relationships with cognition and function. *J Sleep Res*, 4: 15-20.
- Molinuevo JL, Sánchez-Valle R, Lladó A, Fortea J, Bartres-Faz D, Rami L (2011). Identifying earlier Alzheimer's disease: insights from the preclinical and prodromal phases. *Neurodegener Dis*, 10: 158-160.
- Moorcroft WH (1993). Dreaming and sleep disorders, *Boston: University Press of America. Sleep*.

- Morishima-Kawashima M, Ihara Y (2002). Alzheimer's disease: beta-Amyloid protein and tau. *J Neurosci Res*, 70: 392-401.
- Morris JC, Price JL (2001). Pathologic correlates of nondemented aging, mild cognitive impairment, and early-stage Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci*, 17: 101-118.
- Morrison CM, Hirsh KW, Duggan GB (2003). Age of acquisition, ageing, and verb production: Normative and experimental data. *Q J Exp Psychol A*, 56: 705-730.
- Morrison JH, Hof PR (1997). Life and Death of Neurons in the Aging Brain. *Science*, 278: 412-419.
- Most EI, Aboudan S, Scheltens P, Van Someren EJ (2012). Discrepancy between subjective and objective sleep disturbances in early- and moderate-stage Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry*, 20: 460-467.
- Muangpaisan W, Intalapaporn S, Assantachai P (2008). Neuropsychiatric symptoms in the community-based patients with mild cognitive impairment and the influence of demographic factors. *Int J Geriatr Psychiatry*, 23: 699-703.
- Mueller SG, Schuff N, Yaffe K, Madison C, Miller B, Weiner MW (2010). Hippocampal atrophy patterns in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp*, 31: 1339-1347.
- Mufson EJ, Mash DC, Hersh LB (1988). Neurofibrillary tangles in cholinergic pedunculopontine neurons in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 24: 623-629.
- Müller MJ, Greverus D, Weibrich C, Dellani PR, Scheurich A, Stoeter P, Fellgiebel A (2007). Diagnostic utility of hippocampal size and mean diffusivity in amnesic MCI. *Neurobiol Aging*, 28: 398-403.
- Murasko D, Weiner P, Kaye D (1987). Decline in mitogen induced proliferation of lymphocytes with increasing age. *Clin Exp Immunol*, 70: 440-448.
- Murphy KJ, Rich JB, Troyer AK (2006). Verbal fluency patterns in amnesic mild cognitive impairment are characteristic of Alzheimer's type dementia. *J Int Neuropsychol Soc*, 12: 570-574.
- Muth K, Schönmeier R, Matura S, Haenschel C, Schröder J, Pantel J (2010). Mild cognitive impairment in the elderly is associated with volume loss of the cholinergic basal forebrain region. *Biol Psychiatry*, 67: 588-591.
- Naidoo N, Ferber M, Master M, Zhu Y, Pack AI (2008). Aging impairs the unfolded protein response to sleep deprivation and leads to proapoptotic signaling. *J Neurosci*, 28: 6539-6548.
- Nakamura S, Akiguchi I, Kameyama M, Mizuno N (1985). Age-related changes of pyramidal cell basal dendrites in layers III and V of human motor cortex: a quantitative Golgi study. *Acta Neuropathol*, 65: 281-284.
- Naveh-Benjamin M (2000). Adult age differences in memory performance: tests of an associative deficit hypothesis. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn*, 26: 1170-1187.
- Naveh-Benjamin M, Shing YL, Kilb A, Werkle-Bergner M, Lindenberger U, Li SC (2009). Adult age differences in memory for name-face associations: The effects of intentional and incidental learning. *Memory*, 17: 220-232.
- Neikrug AB, Ancoli-Israel S (2010). Sleep disorders in the older adult - a mini-review. *Gerontology*, 56: 181-189.
- Nichelli P, Venneri A, Molinari M, Tavani F, Grafman J (1993). Precision and accuracy of subjective time estimation in different memory disorders. *Brain Res Cogn Brain Res*, 1: 87-93.
- Nicholas M, Obler L, Albert M, Goodglass H (1985). Lexical retrieval in healthy aging. *Cortex*, 21: 595-606.

- Noulhiane M, Pouthas V, Hasboun D, Baulac M, Samson S (2007). Role of the medial temporal lobe in time estimation in the range of minutes. *Neuroreport*, 18: 1035-1038.
- Nyberg L, Salamia A, Andersson M, Eriksson J, Kalpouzos G, Kaupia K, Lind J, Pudas S, Persson J, Lars-Göran, *et al.* (2010). Longitudinal evidence for diminished frontal cortex function in aging. *PNAS*, 107: 22682-22686.
- Obler LK, Fein D, Nicholas M, Albert ML (1991). Auditory comprehension and aging: Decline in syntactic processes. *Appl Psycholinguist*, 12: 433-452.
- Ohayon MM, Carskadon MA, Guilleminault C, Vitiello MV (2004). Meta-analysis of quantitative sleep parameters from childhood to old age in healthy individuals: Developing normative sleep values across the human lifespan. *Sleep*, 27: 1255-1273.
- Ohayon MM, Vecchierini MF (2002). Daytime sleepiness and cognitive impairment in the elderly population. *Arch Intern Med*, 162: 201-208.
- Ohno K, Sakurai T (2008). Orexin neuronal circuitry: role in the regulation of sleep and wakefulness. *Front Neuroendocrinol*, 29: 70-87.
- Organización de las Naciones Unidas (2011). World Population Prospects: The 2010 Revision, Highlights and Advance Tables.
- Organización de las Naciones Unidas (2009). World Population Ageing.
- Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (1998). Maintaining Prosperity in an Envejecimiento Sociedad.
- Orgel LE (1963). The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to ageing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 49: 517-521.
- Ornstein RE (1970). On the experience of time, *Baltimore: Penguin Books*.
- Osorio RS, Pirraglia E, Agüera-Ortiz LF, During EH, Sacks H, Ayappa I, Walsleben J, Mooney A, Hussain A, Glodzik L, *et al.* (2011). Greater risk of Alzheimer's disease in older adults with insomnia. *J Am Geriatr Soc*, 59: 559-562.
- Overman AA, Becker JT (2009). The associative deficit in older adult memory: Recognition of pairs is not improved by repetition. *Psychol Aging*, 24: 501-506.
- Park DC, Gutchess AH (2004). Long-term memory and aging. A cognitive neuroscience perspective. In: Cabeza R, Nyberg I, Park DC, editors. Cognitive neuroscience of aging: linking cognitive and cerebral aging, *New York: Oxford University Press*. pp. 19-57.
- Park DC, Reuter-Lorenz P (2009). The adaptive brain: aging and neurocognitive scaffolding. *Annu Rev Psychol*, 60: 173-196.
- Peigneux P, Laureys S, Fuchs S, Collette F, Perrin F, Reggers J, Phillips C, Degueldre C, Del Fiore G, Aerts J, *et al.* (2004). Are spatial memories strengthened in the human hippocampus during slow wave sleep?. *Neuron*, 44: 535-545.
- Pennanen C, Kivipelto M, Tuomainen S, Hartikainen P, Hänninen T, Laakso MP, Hallikainen M, Vanhanen M, Nissinen A, Helkala EL, *et al.* (2004). Hippocampus and entorhinal cortex in mild cognitive impairment and early AD. *Neurobiol Aging*, 25: 303-310.
- Pérez Díaz J (2010). El envejecimiento de la población española. *Investig Cienc*, 410: 34-42.
- Perls T, Levenson R, Regan M, Puca A (2002). What does it take to live to 100?. *Mech Ageing Dev*, 123: 231-242.
- Peters A, Rosene DL, Moss MB, Kemper TL, Abraham CR, Tigges J, Albert MS (1996). Neurobiological bases of age-related cognitive decline in the rhesus monkey. *J Neuropathol Exp Neurol*, 55: 861-874.

- Petersen RC (2004). Mild cognitive impairment? Beyond controversies, toward a consensus: report of international working group on mild cognitive impairment. *J Intern Med*, 256: 240-246.
- Petersen RC, Doody R, Kurz A, Mohs RC, Morris JC, Rabins PV, Ritchie K, Rossor M, Thal L, Winbland B (2001). Current concepts in mild cognitive impairment. *Arch Neurol*, 58: 1985-1992.
- Petersen RC, Negash S (2008). Mild cognitive impairment. An overview. *CNS Spectrums*, 13: 45-53.
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Kokmen E, Tangalos EG (1997). Aging, memory and mild cognitive impairment. *Int Psychogeriatr*, 9: 65-69.
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E (1999). Mild Cognitive Impairment: Clinical characterization and outcome. *Arch Neurol*, 56: 303-308.
- Petit D, Lorrain D, Gauthier S, Montplaisir J (1993). Regional spectral analysis of the REM sleep EEG in mild to moderate Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 14: 141-145.
- Petit D, Montplaisir J, Lorrain D, Gauthier S (1992). Spectral analysis of the rapid eye movement sleep electroencephalogram in right and left temporal regions: a biological marker of Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 32: 172-176.
- Pike CJ, Walencewicz AJ, Glabe CG, Cotman CW (1991). In vitro aging of beta-amyloid protein causes peptide aggregation and neurotoxicity. *Brain Res*, 563: 311-314.
- Pivik RT, Joncas S, Busby KA (1999). Sleep spindles and arousal: The effects of age and sensory stimulation. *Sleep Res Online*, 2: 89-100.
- Plihal W, Born J (1997). Effects of early and late nocturnal sleep on declarative and procedural memory. *Journal of Cognit. Neurosc*, 9: 534-547.
- Portet F, Ousset PJ, Visser PJ, Frisoni GB, Nobili F, Scheltens P, Vellas B, Touchon J; MCI Working Group of the European Consortium on Alzheimer's Disease (EADC) (2006). Mild cognitive impairment (MCI) in medical practice: a critical review of the concept and new diagnostic procedure. Report of the MCI Working Group of the European Consortium on Alzheimer's Disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 77: 714-718.
- Potvin O, Lorrain D, Forget H, Dubé M, Grenier S, Prévile M, Hudon C (2012). Sleep quality and 1-year incident cognitive impairment in community-dwelling older adults. *Sleep*, 35: 491-499.
- Pousada-Fernández M (1998). El déficit de los mecanismos de inhibición como hipótesis explicativa de la pérdida de memoria asociada a la edad. *Anales de Psicología*, 14: 55-74.
- Price JL, Morris JC (1999). Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 45: 358-368.
- Prinz PN, Larsen LH, Moe KE, Vitiello MV (1992). EEG markers of early Alzheimer's disease in computer selected tonic REM sleep. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 83: 36-43.
- Prinz PN, Vitaliano PP, Vitiello MV, Bokan J, Raskind M, Peskind E, Gerber C (1982). Sleep, EEG and mental function changes in senile dementia of the Alzheimer's type. *Neurobiol Aging*, 3: 361-370.
- Puca AA, Daly MJ, Brewster SJ, Matise TC, Barrett J, Shea-Drinkwater M, Kang S, Joyce E, Nicoli J, Benson E, et al. (2001). A genome-wide scan for linkage to human exceptional longevity identifies a locus on chromosome 4. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 10505-10508.
- Rainville C, Lepage E, Gauthier S, Kergoat MJ, Belleville S (2012). Executive function deficits in persons with mild cognitive impairment: a study with a Tower of London task. *J Clin Exp Neuropsychol*, 34: 306-324.
- Rapp MA, Reischies FM (2005). Attention and executive control predict Alzheimer disease in late life: results from the Berlin Aging Study (BASE). *Am J Geriatr Psychiatry*, 13: 134-141.
- Rattan SI (1989). DNA damage and repair during cellular aging. *Int Rev Cytol*, 116: 47-88.

- Raz N (2005). The aging brain observed in vivo differential changes and their modifiers. In: Roberto C, Lars N, Denise P, editors. Cognitive neuroscience of aging: Linking cognitive and cerebral aging, *New York: Oxford University Press*. pp. 19-57.
- Raz N (2004). The aging brain observed in vivo: differential changes and their modifiers. In: Cabeza R, Nyberg L, Park DC, editors. Cognitive neuroscience of aging: linking cognitive and cerebral aging, *New York: Oxford University Press*. pp. 17-55.
- Raz N, Lindenberger U, Rodrigue KM, Kennedy KM, Head D, Williamson A, Dahle C, Gerstorf D, Acker JD (2005). Regional brain changes in aging healthy adults: General trends, individual differences, and modifiers. *Cereb Cortex*, 15: 1676-1689.
- Ready RE, Ott BR, Grace J, Cahn-Weiner DA (2003). Apathy and executive dysfunction in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry*, 11: 222-228.
- Rechtschaffen A, Kales A (1968). A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. *Los Angeles: Brain Information Service/Brain Research Institute, University of California*.
- Reid KJ, Martinovich Z, Finkel S, Statsinger J, Golden R, Harter K, Zee PC (2006). Sleep: a marker of physical and mental health in the elderly. *Am J Geriatr Psychiatry*, 14: 860-866.
- Reimund E (1994). The free radical flux theory of sleep. *Med Hypotheses*, 43: 231-233.
- Reisberg B, Ferris SH, De Leon MJ, Crook T (1982). The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am J Psychiatry*, 139: 1136-1139.
- Resnick SM, Goldszal AF, Davatzikos C, Golski S, Kraut MA, Metter EJ, Bryan RN, Zonderman AB (2000). One-year age changes in MRI brain volumes in older adults. *Cereb Cortex*, 10: 464-472.
- Reynolds CF, Monk TH, Hoch CC, Jennings JR, Buysse DJ, Houck PR, Jarrett DB, Kupfer DJ (1991). Electroencephalographic sleep in the healthy "old old": A comparison with the "young old" in visually scored and automated measures. *J Gerontol*, 46: 39-46.
- Richard E, Reitz C, Honig LH, Schupf N, Tang MX, Manly JJ, Mayeux R, Devanand D, Luchsinger JA (2013). Late-life depression, mild cognitive impairment, and dementia. *JAMA Neurol*, 70: 374-382.
- Rizzo M, Anderson SW, Dawson J, Myers R, Ball K (2000). Visual attention impairments in Alzheimer's disease. *Neurology*, 54: 1954-1959.
- Rodrigue KM, Raz N (2004). Shrinkage of the entorhinal cortex over five years predicts memory performance in healthy adults. *J Neurosci*, 24: 956-963.
- Roepke SK, Ancoli-Israel S (2010). Sleep disorders in the elderly. *Indian J Med Res*, 131: 302-310.
- Roffwarg HP, Muzio JN, Dement WC (1966). Ontogenetic development of the human sleep-dream cycle. *Science*, 152: 604-619.
- Rogaeva E, Kawarai T, George-Hyslop PS (2006). Genetic complexity of Alzheimer's disease: successes and challenges. *J Alzheimers Dis*, 9: 381-387.
- Roh JH, Huang Y, Bero AW, Kasten T, Stewart FR, Bateman RJ, Holtzman DM (2012). Disruption of the sleep-wake cycle and diurnal fluctuation of β -amyloid in mice with Alzheimer's disease pathology. *Sci Transl Med*, 5: 150ra122.
- Rugg MD, Johnson JD, Park H, Uncapher MR (2008). Encoding-retrieval overlap in human episodic memory: a functional neuroimaging perspective. *Prog Brain Res*, 169: 339-352.
- Sabbagh MN, Shah F, Reid RT, Sue L, Connor DJ, Peterson LK, Beach TG (2006). Pathologic and nicotinic receptor binding differences between mild cognitive impairment, Alzheimer disease, and normal aging. *Arch Neurol*, 63: 1771-1776.

- Saint Martin M, Sforza E, Barthélémy JC, Thomas-Anterion C, Roche F (2012). Does subjective sleep affect cognitive function in healthy elderly subjects? The Proof cohort. *Sleep Med*, 13: 1146-1152.
- Salminen A, Kauppinen A, Suuronen T, Kaarniranta K, Ojala J (2009). ER stress in Alzheimer's disease: a novel neuronal trigger for inflammation and Alzheimer's pathology. *J Neuroinflammation*, 6: 41.
- Salthouse TA (1996). The processing-speed theory of adult age differences in cognition. *Psychol Rev*, 103: 403-428.
- Sampayo JN, Gill MS, Lithgow GJ (2003). Oxidative stress and aging--the use of superoxide dismutase/catalase mimetics to extend lifespan. *Biochem Soc Trans*, 31: 1305-1307.
- Saper CB, Chou TC, Scammell TE (2001). The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends Neurosci*, 24: 726-731.
- Scheff SW, Price DA, Schmitt FA, DeKosky ST, Mufson EJ (2007). Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology*, 68: 1501-1508.
- Scheff SW, Price DA, Schmitt FA, Mufson EJ (2006). Hippocampal synaptic loss in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiol Aging*, 27: 1372-1384.
- Scheibel ME, Lindsay RD, Tomiyasu U, Scheibel AB (1975). Progressive dendritic changes in aging human cortex. *Exp Neurol*, 47: 392-403.
- Seshadri S, Fitzpatrick AL, Ikram MA, DeStefano AL, Gudnason V, Boada M, Bis JC, Smith AV, Carassquillo MM, Lambert JC, *et al.* (2010). Genome-wide analysis of genetic loci associated with Alzheimer disease. *JAMA*, 303: 1832-1840.
- Shafit MA, Burke DM, Stamatakis EA, Tam PP, Tyler LK (2007). On the tip-of-the-tongue: Neural correlations of increased word-finding failures in normal aging. *J Cogn Neurosci*, 19: 2060-2070.
- Shahnawaz Z, Reppermund S, Brodaty H, Crawford JD, Draper B, Trollor JN, Sachdev PS (2013). Prevalence and characteristics of depression in mild cognitive impairment: the Sydney Memory and Ageing Study. *Acta Psychiatr Scand*, 127: 394-402.
- Sherin JE, Shiromani PJ, McCarley RW, Saper CB (1996). Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep. *Science*, 271: 216-219.
- Sohal RS, Sohal BH, Brunk UT (1990). Relationship between antioxidant defenses and longevity in different mammalian species. *Mech Ageing Dev*, 53: 217-227.
- Sohal RS, Svensson I, Sohal BH, Brunk UT (1989). Superoxide anion radical production in different animal species. *Mech Ageing Dev*, 49: 129-135.
- Solesio-Jofre E, Lorenzo-López L, Gutiérrez R, López-Frutos JM, Ruiz-Vargas JM, Maestú F (2012). Age-related effects in working memory recognition modulated by retroactive interference. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 67: 565-572.
- Song F, Poljak A, Smythe GA, Sachdev P (2009). Plasma biomarkers for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Brain Res Rev*, 61: 69-80.
- Sorel O, Pennequin V (2008). Aging of the planning process: The role of executive functioning. *Brain Cogn*, 66: 196-201.
- Spaniol J, Madden DJ, Voss A (2006). A diffusion model analysis of adult age differences in episodic and semantic long-term memory retrieval. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn*, 32: 101-117.
- Squire LR, Zola-Morgan S (1991). The medial temporal lobe memory system. *Science*, 253: 1380-1386.
- Stadtman E (1989). Protein modification in aging. *J Gerontol*, 43: 112-120.

- Stern Y, Rakitin BC (2004). Age-related differences in executive control of working memory. *Mem Cognit*, 32: 1333-1345.
- Stickgold R (2005). Sleep-dependent memory consolidation. *Nature*, 437: 1272-1278.
- Stickgold R, James L, Hobson JA (2000). Visual discrimination learning requires sleep after training. *Nat Neurosci*, 3: 1237-1238.
- Stoub TR, Rogalski EJ, Leurgans S, Bennett DA, deToledo-Morrell L (2010). Rate of entorhinal and hippocampal atrophy in incipient and mild AD: relation to memory function. *Neurobiol Aging*, 31: 1089-1098.
- Strehler B, Hirsch G, Gusseck D, Johnson R, Bick M (1971). Codon-restriction theory by aging and development. *J Theor Biol*, 33: 429-474.
- Swaab DF, Fliers E (1985). A sexually dimorphic nucleus in the human brain. *Science*, 228: 1112-1115.
- Taler V, Phillips NA (2008). Language performance in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a comparative review. *J Clin Exp Neuropsychol*, 30: 501-556.
- Tapiola T, Pennanen C, Tapiola M, Tervo S, Kivipelto M, Hanninen T, Pihlajamaki M, Laakso MP, Hallikainen M, Hamalainen A, et al. (2008). MRI of hippocampus and entorhinal cortex in mild cognitive impairment: a follow-up study. *Neurobiol Aging*, 29: 31-38.
- Teipel SJ, Meindl T, Grinberg L, Grothe M, Cantero JL, Reiser MF, Möller H, Heinsen H, Hampel H (2010). The cholinergic system in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an in vivo MRI and DTI study. *Hum Brain Mapp*, 32: 1349-1362.
- Terry RD, Katzman R (2001). Life span and synapses: will there be a primary senile dementia?. *Neurobiol Aging*, 22: 347-348.
- Terry RD, Katzman R (1983). Senile dementia of the Alzheimer type. *Ann Neurol*, 14: 497-506.
- Tervo S, Kivipelto M, Hänninen T, Vanhanen M, Hallikainen M, Mannermaa A, Soininen H (2004). Incidence and risk factors for mild cognitive impairment: a population-based three-year follow-up study of cognitively healthy elderly subjects. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 17: 196-203.
- Thompson SA, Graham KS, Patterson K, Sahakian BJ, Hodges JR (2002). Is knowledge of famous people disproportionately impaired in patients with early and questionable Alzheimer's disease?. *Neuropsychology*, 16: 344-358.
- Tononi G, Cirelli C (2006). Sleep function and synaptic homeostasis. *Sleep Med Rev*, 10: 49-62.
- Tractenberg RE, Singer CM, Kaye JA (2006). Characterizing sleep problems in persons with Alzheimer's disease and normal elderly. *J Sleep Res*, 15: 97-103.
- Traykov L, Raoux N, Latour F, Gallo L, Hanon O, Baudic S, Bayle C, Wenisch E, Remy P, Rigaud AS (2007). Executive functions deficit in mild cognitive impairment. *Cogn Behav Neurol*, 20: 219-224.
- Treitz FH, Heyder K, Daum I (2007). Differential course of executive control changes during normal aging. *Neuropsychol Dev Cogn B Aging Neuropsychol Cogn*, 14: 370-393.
- Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M, Spelbrink JN, Rovio AT, Bruder CE, Bohlooly-Y M, Gidlöf S, Oldfors A, Wibom R, et al. (2004). Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature*, 429: 417-423.
- Troen BR (2003). The biology of aging. *Mt Sinai J Med*, 70: 3-22.
- Troyer AK, Murphy KJ, Anderson ND, Hayman-Abello BA, Craik FI, Moscovitch M (2008). Item and associative memory in amnesic mild cognitive impairment: performance on standardized memory tests. *Neuropsychology*, 22: 10-16.

- Tsantali E, Economidis D, Tsolaki M (2013). Could language deficits really differentiate Mild Cognitive Impairment (MCI) from mild Alzheimer's disease?. *Arch Gerontol Geriatr*, 57: 263-270.
- Tulving E (1972). Episodic and semantic memory. In: Tulving E, Donaldson W, editors. *Organization of Memory*, New York: Academic Press. pp. 381-402.
- Tulving E (1983). *Elements of episodic memory*, Cambridge: Oxford University Press.
- Unruh ML, Redline S, An MW, Buysse DJ, Nieto FJ, Yeh JL, Newman AB, (2008). Subjective and objective sleep quality and aging in the sleep heart health study. *J Am Geriatr Soc*, 56: 1218-1227.
- Van Cauter E, Leproult R, Plat L (2000). Age-related changes in slow wave sleep and REM sleep and relationship with growth hormone and cortisol levels in healthy men. *JAMA*, 284: 861-868.
- Van Dam NT, Sano M, Mitsis EM, Grossman HT, Gu X, Park Y, Hof PR, Fan J (2013). Functional neural correlates of attentional deficits in amnesic mild cognitive impairment. *PLoS One*, 8: e54035.
- Van der Meulen M, Lederrey C, Rieger SW, van Assche M, Schwartz S, Vuilleumier P, Assal F (2012). Associative and semantic memory deficits in amnesic mild cognitive impairment as revealed by functional magnetic resonance imaging. *Cogn Behav Neurol*, 25: 195-215.
- Van Der Werf YD, Altena E, Schoonheim MM, Sanz-Arigita EJ, Vis JC, De Rijke W, Van Someren EJ (2009). Sleep benefits subsequent hippocampal functioning. *Nat Neurosci*, 12: 122-123.
- Van Hoesen GW, Augustinack JC, Dierking J, Redman SJ, Thangavel R (2000). The parahippocampal gyrus in Alzheimer's disease. Clinical and preclinical neuroanatomical correlates. *Ann N Y Acad Sci*, 911: 254-274.
- Vanni-Mercier G, Sakai K, Lin JS, Jouvet M (1989). Mapping of cholinceptive brainstem structures responsible for the generation of paradoxical sleep in the cat. *Arch Ital Biol*, 127: 133-164.
- Vázquez J, Baghdoyan HA (2001). Basal forebrain acetylcholine release during REM sleep is significantly greater than during waking. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 280: R598-601.
- Verghese PB, Castellano JM, Holtzman DM (2011). Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol*, 10: 241-252.
- Verma M, Howard RJ (2012). Semantic memory and language dysfunction in early Alzheimer's disease: a review. *Int J Geriatr Psychiatry*, 27: 1209-1217.
- Viña J, Borrás C, Miquel J (2007). Theories of ageing. *IUBMB Life*, 59: 249-254.
- Vitiello MV, Foley D, Stratton KL (2004). Prevalence of sleep complaints and their relationship to medical conditions in the vitamins and lifestyle (VITAL) Study cohort of 77,000 older men and women. *Sleep*, 27: 120.
- Vitiello MV, Moe KE, Prinz PN (2002). Sleep complaints cosegregate with illness in older adults: clinical research informed by and informing epidemiological studies of sleep. *J Psychosom Res*, 53: 555-559.
- Vitiello MV, Prinz PN (1989). Alzheimer's disease. Sleep and sleep/wake patterns. *Clin Geriatr Med*, 5: 289-299.
- Vitiello MV, Prinz PN, Williams DE, Frommlet MS, Ries RK (1990). Sleep disturbances in patients with mild-stage Alzheimer's disease. *J Gerontol*, 45: 131-138.

- Vogels OJ, Broere CA, ter Laak HJ, ten Donkelaar HJ, Nieuwenhuys R, Schulte BP (1990). Cell loss and shrinkage in the nucleus basalis Meynert complex in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 11: 3-13.
- Von Hahn HP (1966). A model of "regulatory" aging of the cell at the gene level. *J Gerontol*, 21: 291-294.
- Walford RL (1969). The Immunologic theory of aging, *Copenhagen: Munksgaard*.
- Walhovd KB, Westlye LT, Amlie I, Espeseth T, Reinvang I, Raz N, Agartz I, Salat DH, Greve DN, Fischl B, *et al.* (2011). Consistent neuroanatomical age-related volume differences across multiple samples. *Neurobiol Aging*, 32: 916-932.
- Walker MP, Brakefield T, Morgan A, Hobson JA, Stickgold R (2002). Practice with sleep makes perfect: sleep-dependent motor skill learning. *Neuron*, 35: 205-211.
- Wang PN, Liu HC, Lirng JF, Lin KN, Wu ZA (2009). Accelerated hippocampal atrophy rates in stable and progressive amnesic mild cognitive impairment. *Psychiatry Res*, 171: 221-231.
- Watson JD (1972). Origin of concatemeric T7 DNA. *Nat. New Biol*, 239: 197-201.
- Webb WB (1982). Sleep in older persons: sleep structures of 50 to 60 year old men and women. *J Gerontol*, 37: 581-586.
- Webb WB, Campbell SS (1979). The first night effect revisited with age as a variable. *Waking Sleeping*, 3: 319-324.
- Weindruch R, Kayo T, Lee CK, Prolla TA (2002). Gene expression profiling of aging using DNA microarrays. *Mech Ageing Dev*, 123: 177-193.
- Weismann A (1882). *Über die Dauer des Lebens. Jena: Fischer*.
- Westerberg CE, Mander BA, Florczak SM, Weintraub S, Mesulam MM, Zee PC, Paller KA (2012). Concurrent impairments in sleep and memory in amnesic mild cognitive impairment. *J Int Neuropsychol Soc*, 18: 490-500.
- Whitehouse PJ, Price DL, Clark AW, Coyle JT, DeLong MR (1981). Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann Neurol*, 10: 122-126.
- Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund LO, Nordberg A, Bäckman L, Albert M, Almkvist O, *et al.* (2004). Mild cognitive impairment-beyond controversies, towards a consensus: Report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J Intern Med*, 256: 240-246.
- Wise PM, Krajnak KM, Kashon ML (1996). Menopause: the aging of multiple pacemakers. *Science*, 273: 67-70.
- Wlotko EW, Lee CL, Federmeier KD (2010). Language of the aging brain: Event-related potential studies of comprehension in older adults. *Lang Linguist Compass*, 4: 623-638.
- Wolk DA, Price JC, Saxton JA, Snitz BE, James JA, Lopez OL, Aizenstein HJ, Cohen AD, Weissfeld LA, Mathis CA, *et al.* (2009). Amyloid imaging in mild cognitive impairment subtypes. *Ann Neurol*, 65: 557-568.
- Wollmer MA (2010). Cholesterol-related genes in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*, 1801: 762-773.
- Woodward M (2012). Sleep in older people. *Rev Clin Gerontol*, 22: 130-149.
- World Health Organization (2010). World Development Indicators.
- Wu YH, Feenstra MG, Zhou JN, Liu RY, Toranó JS, Van Kan HJ, Fischer DF, Ravid R, Swaab DF (2003). Molecular changes underlying reduced pineal melatonin levels in Alzheimer disease: alterations in preclinical and clinical stages. *J Clin Endocrinol Metab*, 88: 5898-5906.

- Yamasaki T, Horie S, Muranaka H, Kaseda Y, Mimori Y, Tobimatsu S (2012). Relevance of in vivo neurophysiological biomarkers for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 31: S137-154.
- Yaroush R, Sullivan MJ, Ekstrand BR (1971). Effect of sleep on memory. II. Differential effect of the first and second half of the night. *J Exp Psychol*, 88: 361-366.
- Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O (1983). Development and validation of a geriatric depression scale: a preliminary report. *J Psychiat Res*, 17: 37-49.
- Yesavage JA, Friedman L, Kraemer H, Tinklenberg JR, Salehi A, Noda A, Taylor JL, O'Hara R, Murphy G (2004). Sleep/wake disruption in Alzheimer's disease: APOE status and longitudinal course. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 17: 20-24.
- Yoo SS, Hu PT, Gujar N, Jolesz FA, Walker MP (2007). A deficit in the ability to form new human memories without sleep. *Nat Neurosci*, 10: 385-392.
- Yu JM, Tseng IJ, Yuan RY, Sheu JJ, Liu HC, Hu CJ (2009). Low sleep efficiency in patients with cognitive impairment. *Acta Neurol Taiwan*, 18: 91-97.
- Zahr NM, Rohlfing T, Pfefferbaum A, Sullivan EV (2009). Problem solving, working memory, and motor correlates of association and commissural fiber bundles in normal aging: A quantitative fiber tracking study. *Neuroimage*, 44: 1050-1062.
- Zaidi A (2008). Características y retos del envejecimiento de la población: La perspectiva europea.
- Zhang Y, Schuff N, Jahng GH, Bayne W, Mori S, Schad L, Mueller S, Du AT, Kramer JH, Yaffe K, *et al.* (2007). Diffusion tensor imaging of cingulum fibers in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Neurology*, 68: 13-19.
- Zhang B, Veasey SC, Wood MA, Leng LZ, Kaminski C, Leight S, Abel T, Lee VM, Trojanowski JQ (2005). Impaired rapid eye movement sleep in the Tg2576 APP murine model of Alzheimer's disease with injury to pedunculopontine cholinergic neurons. *Am J Pathol*, 167: 1361-1369.

9. ANEXOS

Disturbed Sleep Patterns in Elders with Mild Cognitive Impairment: The Role of Memory Decline and ApoE ϵ 4 Genotype

Eva Hita-Yañez¹, Mercedes Atienza¹, Eulogio Gil-Neciga² and Jose L. Cantero^{1,*}

¹Laboratory of Functional Neuroscience, Spanish Network of Excellence for Research on Neurodegenerative Diseases (CIBERNED), University Pablo de Olavide, Seville, Spain; ²Dementia Unit, Neurology Department, University Hospital Virgen del Rocío, Seville, Spain

Abstract: Sleep disturbances are prevalent in patients with Alzheimer's disease (AD), being one of the most troubling symptoms during the progression of disease. However, little research has been made to determine if impaired sleep patterns appear years before AD diagnosis. This study tries to shed light on this issue by performing polysomnographic recordings in healthy elders and patients with mild cognitive impairment (MCI). We further investigated whether changes in sleep patterns parallel memory decline as well as its relationship with the Apolipoprotein E (ApoE) ϵ 4 genotype. Results showed a significant shortening of rapid eye movement (REM) sleep together with increased fragmentations of slow-wave sleep in MCI patients relative to healthy elders. Interestingly, we further showed that reduction of REM sleep in MCI patients with ApoE ϵ 4 was more noticeable than in ϵ 4 non-carriers. Contrary to our initial hypothesis, changes in sleep patterns were not correlated with memory performance in MCI patients. Instead, increased REM sleep accompanied enhanced immediate recall in MCI ϵ 4 non-carriers. Taken together, these results suggest that sleep disruptions are evident years before diagnosis of AD, which may have implications for early detection of dementia and/or therapeutic management of sleep complaints in MCI patients.

Keywords: Aging, Alzheimer disease, ApoE, Memory loss, Mild cognitive impairment, Polysomnography, REM, Sleep fragmentation.

INTRODUCTION

Aging is associated with progressive impairment of the organism's functional capacity, from cells to systems. With advancing age, a progressive loss of coordination among circadian systems and external inputs results in an advanced phase of the circadian cycle [1], which leads to earlier sleep onset and earlier morning waking in elderly subjects [2]. In line with these findings, previous studies have reported age-related volume reductions of the ventrolateral preoptic (VLPO) nucleus [3], an anterior hypothalamic structure critically involved in sleep onset and maintenance [4]. The aforementioned results might contribute to increased sleep fragmentation [5] and slow-wave sleep (SWS) deficits found in older adults [6]. Therefore, evidence suggests that neural systems governing regulation and maintenance of sleep-wake cycle are particularly vulnerable to senescence [7], and might be caused by age-related neural impairments [8].

Accumulating evidence suggest a high prevalence of sleep disorders in age-related neurodegenerative conditions as Parkinson [9], dementia with Lewy bodies [10], frontotemporal dementia [11], and Alzheimer's disease (AD) [12-16]. AD patients, depending on disease severity, have shown impaired sleep patterns ranging from sleep fragmentation to decreased time spent in SWS and/or rapid eye movement

(REM) sleep [17]. However, whether these altered sleep patterns precede AD diagnosis remains controversial to date.

Elders with mild cognitive impairment (MCI) show a significant decline in memory over time beyond what is expected from normal aging. In fact, 19% to 50% of individuals with MCI progress to dementia (typically AD) over a period of 3 years [18]. The belief that MCI represents the prodromal stage of AD has received strong support from neuropathological [19, 20], biochemical [21], neuroimaging [22, 23], and neurophysiological studies [24, 25]. To the best of our knowledge, only one study has explored nocturnal sleep patterns in MCI patients by performing polysomnographic (PSG) recordings [26]. Authors found no significant changes in sleep structure of MCI patients when compared to age-matched controls, which might be due in part to the small and heterogeneous sample employed in that study. In contrast, a recent meta-analysis study has revealed that 17-59% of MCI patients reported sleep problems [27]. This controversy highlights the need of determining whether elders with MCI also exhibit objective alterations in sleep patterns, which may have implications for early diagnosis of AD and preliminary therapeutic management of sleep complaints in these patients.

The presence of the allele ϵ 4 in the apolipoprotein (ApoE) gene is the major genetic risk factor for AD [28], and it predicts the rate of cognitive decline in elderly subjects [29]. Previous studies have reported significant changes of melatonin levels in AD patients with different ApoE polymorphisms [30], suggesting a potential relationship between hormonal regulation of the sleep-wake cycle and ApoE car-

*Address correspondence to this author at the Laboratory of Functional Neuroscience, University Pablo de Olavide, Carretera de Utrera Km 1, 41013 - Seville, Spain; Tel: +34 954 977433; Fax: +34 954 349151; E-mail: jlcanlor@upo.es

rier status in AD. Recent studies, based on either actigraph recordings [31] or self-reports [32], have tried to relate the ApoE $\epsilon 4$ genotype to sleep disturbances in AD patients, but results appeared contradictory. Consequently, further PSG studies in MCI patients are clearly needed to verify the combined value of ApoE $\epsilon 4$ genotype and sleep patterns as an early marker of AD.

The objective of the present study is threefold. First of all, to determine whether sleep patterns differ between healthy old persons and elders with MCI. Secondly, to evaluate the potential impact of ApoE $\epsilon 4$ genotype on sleep structure of MCI patients. And thirdly, to examine whether there is a relationship between memory performance and sleep/wake parameters in healthy elders and MCI patients.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Twenty-five MCI patients (7 females, mean age: 70.5 ± 6.8 yr) and 25 healthy old (HO) volunteers (13 females, mean age: 67.1 ± 5.3 yr) were recruited from the Dementia Unit of the University Hospital Virgen del Rocío and the local community, respectively. HO participants and MCI patients were included in the study on a first-come, first-served basis. Demographic profiles of the two groups are shown in Table 1. All subjects provided written informed consent prior to their participation in the study. Experimental protocols were previously approved by the Ethical Committee for Clinical Investigations at the University Hospital Virgen del Rocío, and the Ethical Committee for Human Research at the University Pablo de Olavide. Research procedures were conducted in accordance with the Helsinki Declaration.

The diagnosis of amnesic MCI was based on consensus criteria [33]: (i) subjective memory complaints corroborated by the informant, (ii) objective memory decline evidenced by neuropsychological tests (scorings 1.5 standard deviations below the age-appropriate mean). Immediate and delayed

recall were assessed with the Spanish version of the Logical Memory subtest extracted from the Wechsler Memory Scale-Third Edition (WMS-III), (iii) global score of 0.5 (questionable dementia) in the clinical dementia rating (CDR), (iv) normal independence function, judged both clinically and by means of the interview for deterioration in daily living activities (IDDD) validated in the Spanish population [34], and (v) not meeting DSM-IV criteria for dementia. Global cognitive status was assessed with the Mini Mental State Examination (MMSE). Depression was excluded by the Geriatric Depression Scale (GDS) (shorter version) [35]. The GDS cut off was ≤ 5 . MCI patients were not taking cholinesterase inhibitors at the time of recruiting. Inclusion criteria for HO subjects were (i) absence of objective memory decline as revealed by the same neuropsychological tests used with MCI patients, (ii) CDR global score of 0 (no dementia), and (iii) normal independent function judged clinically and by means of the IDDD. Depression was excluded by the GDS using the same criteria as for MCI patients.

All participants underwent a neurological exploration to rule out obvious neurological diseases. Furthermore, cerebral magnetic resonance imaging (MRI) was performed in both HO subjects and MCI patients to determine structural lesions such as territorial cerebral infarction, brain tumor, hippocampal sclerosis, and vascular malformation. Those with periventricular or deep white matter ischemia, as revealed by scorings above 1 on the Fazekas ischemic scale [36], were excluded from the study. Participants reporting a history of neurological, psychiatric disorders, and/or major medical illness (chronic renal, hepatic, pulmonary or endocrine) were also excluded. The use of medication known to affect the sleep-wake cycle (benzodiazepines, tricyclic, or serotonin reuptake inhibitor antidepressants) was also considered cause for exclusion, both in HO and MCI patients. The absence of secondary causes of cognitive deficits was assessed by laboratory tests including complete blood count, blood chemistry, vitamin B12/folate, and thyroid function tests. Participants reported no complaints of sleep-disordered breathing, movement disorders during sleep or unusual sleep schedules (i.e.,

Table 1. Demographic and Cognitive Profile of HO Subjects and MCI Patients

	HO (n = 25)	MCI (n = 25)	P <	MCI $\epsilon 4^-$ (n = 14)	MCI $\epsilon 4^+$ (n = 11)	p <
Age, yr	67.1 ± 5.3	70.5 ± 6.8	0.06	67.4 ± 6.9	74.4 ± 4.5	0.01
Gender (F / M)	13 / 12	7 / 18	0.08	3 / 11	4 / 7	0.4
Education, yr	8.5 ± 2.6	9.5 ± 5.3	0.4	8.0 ± 5.1	11.4 ± 5.1	0.1
CDR (sum of boxes)	0	0.5	N/A	0.5	0.5	N/A
MMSE	28.1 ± 1.3	26.7 ± 2.4	0.02	27.3 ± 2.4	26.0 ± 2.5	0.2
ESS	5 ± 2.4	5.4 ± 3.5	0.6	5.1 ± 2.6	5.8 ± 4.6	0.6
Immediate recall	13.9 ± 2.9	9.0 ± 2.9	10^{-6*}	10.3 ± 2.9	7.4 ± 1.9	0.008*
Delayed recall	13.0 ± 2.9	6.1 ± 3.9	10^{-8*}	8.1 ± 3.6	3.6 ± 2.6	0.002*

HO (healthy old); MCI (mild cognitive impairment). $\epsilon 4^-$ (ApoE $\epsilon 4$ non-carriers); $\epsilon 4^+$ (ApoE $\epsilon 4$ carriers). Results are expressed as mean \pm SD (standard deviation). F / M (female / male). CDR (Clinical Dementia Rating), CDR = 0 no dementia, CDR = 0.5 questionable or very mild dementia. ESS (Epworth Sleepiness Scale) scores ranged from 0 to 24, the cut off to suspect pathological daytime sleepiness was set in 10. Gender differences were assessed by the chi-square test. *p-value obtained after applying the Sidak-Bonferroni correction. N/A (not applicable).

(i.e., shift work), which was corroborated by their bed partners and/or caregivers. The Epworth Sleepiness Scale (ESS) was administered to HO subjects and MCI patients to establish the level of subjective daytime sleepiness [37].

Apolipoprotein E Genotyping

Genomic DNA was extracted from peripheral blood using short proteinase K digestion. ApoE genotype was determined by conventional PCR (polymerase chain reaction) methods, using protocols previously described [38].

Polysomnographic Recordings

Participants were admitted to the laboratory at 17:00h for electrode application. Time of lights-out was based on the individual's habitual bedtime, and confirmed by bed partners-caregivers. All subjects were instructed to follow their normal daily routine, take their usual meals, and to refrain from the intake of alcohol for 24 h prior to the study. The day of the experiment, subjects were not allowed to nap.

The PSG protocol included simultaneous recordings of electroencephalography (EEG), vertical and horizontal electrooculography (EOG), and electromyography (EMG) of submental muscles. All these physiological measures are required for sleep staging purposes. Respiratory measures were not collected because all participants reported no complaints of sleep-disordered breathing, corroborated by their bed partners, and ESS scorings below the cut off for suspecting sleep disorders associated with excessive daytime sleepiness. EEG was recorded from scalp locations referred to linked-mastoids. Electrode-scalp impedance was kept below 5 K Ω . Vertical and horizontal EOG recordings were performed with pairs of electrodes placed above and below the left eye, and 1 cm apart from the outer canthus of each eye, respectively. EOG was recorded from a pair of electrodes placed on chin muscles (3 cm apart). All recordings were performed with gold cup, 10 mm diameter electrodes (Grass, Inc.) filled with electrolytic cream, and attached with either surgical tape (face placements) or collodion (scalp placements). PSG recordings were performed in a sound-attenuated bedroom under infrared video-controlled supervision.

All electrophysiological measures were amplified (BrainAmp MR, Brain Vision[®]), filtered (0.1-100 Hz band-pass), digitized (250 Hz, 16-bit resolution), and stored in digital format for off-line analysis. Scoring of sleep stages (20-seconds EEG epochs) was conducted blindly by a trained technician according to standard guidelines [39], based on the following montage: Fp1, Fp2, F3, F4, Fz, C3, C4, Cz, P3, P4, Pz, O1, O2, EMG and EOG. This electrode montage allowed us to reliably determine EEG features intrinsic to each sleep stage as well as EEG arousals. Scoring criteria for EEG arousals were taken from the American Sleep Disorders Association report [40], and the level of sleep disruption was determined with the arousal index (AI). This index resulted from dividing the number of arousals in a sleep stage by the time (in hours) spent in that sleep stage. Statistical analyses included the following dependent variables: Total sleep time (TST, time spent in sleep stages), percent of SWS, REM, wake after sleep onset (WASO, wake

from the sleep onset to the last sleep epoch before the wake-up time), and the AI for SWS and REM sleep.

Statistical Analysis

A logarithmic transformation was applied to non-normally distributed dependent variables to approach normal distribution. Gender differences between groups (HO *versus* MCI; MCI ϵ 4 non-carriers *versus* MCI ϵ 4 carriers) were evaluated by applying the chi-square test, whereas the remaining demographic and cognitive variables were assessed with the Student T-test (Table 1). The Sidak-Bonferroni procedure was applied to correct for multiple comparisons.

A multivariate analysis of covariance (MANCOVA) was computed to study group differences in sleep/wake parameters introducing age as the only covariate, since years of education and levels of daytime sleepiness (ESS scorings) did not reach statistical significance. The effect on each dependent variable was evaluated with *post-hoc* analyses derived from analyses of covariance (ANCOVAs).

Multivariate regression (MVAR) analyses were used to determine whether selected sleep/wake variables predicted memory performance (immediate and/or delayed recall) in any of the groups (HO, MCI, MCI ϵ 4 carriers, and MCI ϵ 4 non-carriers). Next, we performed a multiple regression analysis with each single sleep/wake variable by eliminating the amount of the variation explained by age to establish if that sleep/wake variable significantly predicted memory performance. If the sleep/wake predictor reached significance in at least one of the two groups (HO and/or MCI; MCI ϵ 4-carriers and/or MCI ϵ 4 non-carriers), then we tested if the relationship between memory performance and the sleep/wake parameter differed between the two groups (as revealed by differences between regression slopes). Statistical significance was defined as $p < 0.05$. All statistical analyses were performed with SPSS v. 15 (SPSS Inc., Chicago, IL).

RESULTS

Demographic Variables

HO subjects and MCI patients showed a similar demographic profile (Table 1). Differences between MCI ϵ 4 carriers and non-carriers were only evident for age ($p < 0.01$). The presence of ApoE ϵ 4 has been associated with a major risk of AD in MCI patients [28,41]. In our study, 11 MCI patients were ApoE ϵ 4 heterozygote (ϵ 3/ ϵ 4, $n = 9$; ϵ 2/ ϵ 4, $n = 2$) and the remaining 14 MCI patients were ϵ 4 non-carriers (ϵ 3/ ϵ 3, $n = 12$; ϵ 2/ ϵ 3, $n = 2$). Overall, the prevalence of the ApoE ϵ 4 allele was 3.6-fold greater in MCI patients than in HO, and it was present in 44% of our MCI sample in contrast to the 12% observed in HO subjects. Distribution of the ApoE ϵ 4 genotype in our MCI sample resulted from chance; the presence of ApoE ϵ 4 allele was not employed as an inclusion criterion during the recruiting process.

Memory Function and Sleep/Wake Variables

MCI patients showed a significant memory decline in immediate ($p < 10^{-6}$) and delayed recall ($p < 10^{-8}$) when compared to HO (Table 1). Memory loss was further aggravated in MCI ϵ 4 carriers when compared to non-carriers for the two memory tests (immediate, $p < 0.008$; delayed, $p < 0.002$).

The same pattern of results ($HO > MCI-\epsilon 4 > MCI-\epsilon 4^+$) was corroborated when memory performance in the two tests was compared among the three groups (Pillai's trace, $F_{4,94}=10.6$, $p<10^{-6}$; *post hoc* analyses, $p<0.03$). Although differences in memory performance between MCI $\epsilon 4$ carriers and non-carriers were significantly reduced after accounting for age effects, they still remained significant (Pillai's trace for group $F_{4,92}=9.2$, $P<10^{-5}$; Pillai's trace for age $F_{2,45}=7.4$, $p<0.002$).

Sleep patterns of our HO sample are in agreement with those previously reported [42, 43]. Table 2 summarizes sleep/wake measures in HO and MCI patients, and in MCI $\epsilon 4$ carriers and non-carriers. Age was introduced as a covariate due to significant correlations with sleep/wake parameters (Pillai's trace, $F_{6,42}=2.5$, $p<0.03$). No significant relationship was found between ESS scorings and sleep/wake parameters, indirectly supporting the absence of sleep-related breathing disorders associated with excessive daytime sleepiness in our study population.

The MANCOVA yielded significant group differences in sleep/wake parameters (Pillai's trace, $F_{6,42}=3.2$, $p<0.01$). Further ANCOVAs confirmed that SWS was significantly disrupted in MCI patients as revealed by the higher density of arousals showed during this cerebral state ($F_{1,47}=9.8$, $p<0.003$). We further found that REM sleep was shortened by approximately 5% in MCI when compared to HO ($F_{1,47}=8.1$, $p<0.007$). Although REM reduction was even more prominent in MCI $\epsilon 4$ carriers than in non-carriers ($F_{1,23}=6.2$, $p<0.02$), this effect didn't reach significance. Fig. (1) shows differences in sleep-wake parameters between HO and MCI, and between MCI $\epsilon 4$ carriers and non-carriers.

Relationships between Sleep/Wake Parameters and Cognition

Neither SWS arousals nor REM percentage predicted cognitive decline in HO and/or MCI patients. As REM sleep was significantly shortened in MCI $\epsilon 4$ carriers when compared to non-carriers ($p<0.02$, uncorrected for multiple comparisons), we evaluated whether this reduction predicted memory performance in both subgroups of MCI patients.

This analysis confirmed a positive relationship between REM sleep and memory impairment for immediate recall, but only for MCI $\epsilon 4$ non-carriers ($F_{2,11} = 6.3$, $p<0.01$, adjusted R squared = 0.45, beta = 0.63, $p<0.01$). Comparison of regression slopes between MCI $\epsilon 4$ carriers and non-carriers confirmed significant differences between the two groups ($F_{4,20} = 7.1$, $p<0.001$, adjusted R squared = 0.5, beta for the interaction term = 1.3, $p<0.006$). Fig. (2) illustrates the regression slopes for MCI $\epsilon 4$ carriers and non-carriers after accounting for age.

DISCUSSION

The present study provides the first evidence of impaired sleep patterns in elders with MCI. MCI patients showed reduced amounts of REM sleep and increased fragmentation of SWS. REM sleep deficits in MCI patients were aggravated by the presence of the ApoE $\epsilon 4$ genotype, but the relationship between REM shortening and memory performance was only evident in MCI $\epsilon 4$ non-carriers. Overall, these findings suggest that sleep patterns are affected years before AD diagnosis, which may have implications for early detection of dementia and/or therapeutic management of sleep disturbances in MCI patients.

Pioneering evidence has shown that wake duration correlates positively with accumulation of amyloid-beta (A β) and with increased levels of orexin [44], a neuropeptide synthesized in neurons of the lateral hypothalamic area which projects to and inhibits the VLPO nucleus, critical for the maintenance of wakefulness [45]. We hypothesize that sleep loss (increased wake duration) caused by SWS fragmentation in MCI patients might contribute to facilitate molecular pathways involved in the production of toxic amyloid oligomers for years in a silent but irreversible manner. Two lines of evidence support this hypothesis. Firstly, sleep loss caused by excessive sleep fragmentation has been previously reported in mild-to-moderate AD patients [15, 16], and it is aggravated as a function of dementia severity [14]. And secondly, recent studies suggest that aging.

Table 2. Sleep/Wake Patterns in HO Subjects and MCI Patients

	HO (n=25)	MCI (n=25)	<i>p</i> <	MCI $\epsilon 4^-$ (n=14)	MCI $\epsilon 4^+$ (n=11)	<i>p</i> <
Sleep Parameters						
TST (min.)	397.9 \pm 30.1	369.8 \pm 53.8	0.2	375.8 \pm 34.2	362.2 \pm 72.9	0.6
SWS (%)	24.0 \pm 6.9	22.0 \pm 11.7	0.7	21.4 \pm 7.1	22.8 \pm 16.2	0.8
REM (%)	14.7 \pm 3.7	10.1 \pm 5.4	0.007*	12.3 \pm 4.3	7.4 \pm 5.5	0.02*
Wake Parameters						
WASO (%)	12.8 \pm 5.7	18.0 \pm 11.4	0.2	16.4 \pm 6.6	19.9 \pm 15.7	0.6
AI SWS	0.09 \pm 0.11	0.19 \pm 0.10	0.003*	0.20 \pm 0.11	0.17 \pm 0.08	0.5
AI REM	0.17 \pm 0.13	0.16 \pm 0.14	0.9	0.17 \pm 0.16	0.14 \pm 0.12	0.3

HO (healthy old); MCI (mild cognitive impairment); $\epsilon 4^-$ (ApoE $\epsilon 4$ non-carriers); $\epsilon 4^+$ (ApoE $\epsilon 4$ carriers). Results are expressed as mean \pm SD (standard deviation). TST (total sleep time); WASO (wake after sleep onset); SWS (slow-wave sleep); REM (rapid eye movement sleep); AI (arousal index); * $p < 0.05$ (MANCOVA with age as covariate). * p -value after applying the Sidak-Bonferroni correction.

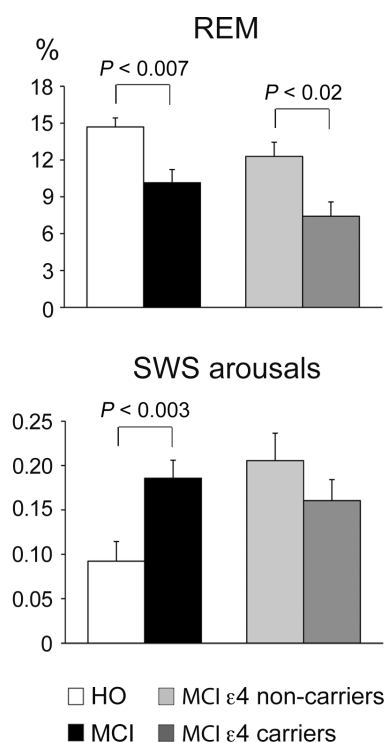


Fig. (1). Significant differences in sleep patterns between HO subjects and MCI patients, and between MCI ε4 carriers and non-carriers for the percentage of REM sleep and the amount of arousals during SWS. Sleep arousals were determined with the arousal index (AI). SWS (slow-wave sleep); REM (rapid eye movement sleep).

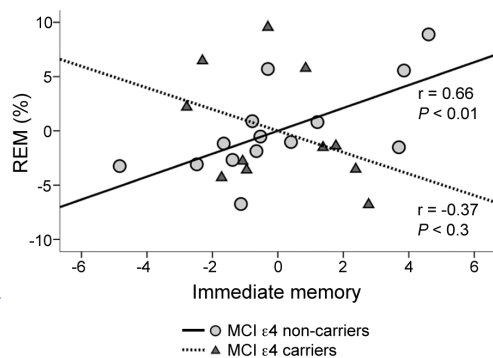


Fig. (2). Scatter plot of partial correlation (after eliminating variations explained by age) displaying a significant positive correlation between REM percentage and immediate memory performance in MCI ε4 carriers (triangles) and no significant correlation between the same variables in MCI ε4 non-carriers (circles).

together with sleep loss impairs the response of the endoplasmic reticulum to cellular stress, leading to protein misfolding, accumulation, and aggregation [46]. Both misfolded proteins and the maladaptive response of the endoplasmic reticulum have been reported as common features in a broad range of neurodegenerative diseases [47, 48], including AD [49, 50]. Consequently, increased sleep disruptions in MCI patients could exacerbate protein aggregation acting as a positive feedback in these conditions [51]. Whether increased SWS fragmentation contributes to exacerbate the progress to AD or it is just a consequence of molecular processes accompanying incipient neurodegeneration is a timely question that should be addressed in future studies.

The suprachiasmatic nucleus (SCN) is the primary circadian pacemaker in the mammalian brain and plays a central role in the generation and control of biological rhythms [52]. Previous studies have shown that VLPO and SCN are indirectly connected via the medial preoptic area, dorsomedial [53], and dorsolateral hypothalamic nuclei [54], suggesting that synaptic coordination between the two structures may play a critical role in the onset and maintenance of sleep-wake states. *Post mortem* evidence derived from MCI and AD patients has shown that degeneration of the retina-SCN-pineal axis may underlie such changes [55]. Therefore, difficulties of MCI patients for maintaining sleep continuity might be facilitated by structural damage and/or loss of synaptic efficacy between circadian structures and sleep-active neurons of VLPO nucleus.

To our knowledge, this study provides the first evidence of REM sleep reduction in MCI patients, particularly evident in MCI ε4 carriers. Previous evidence also showed decreased REM sleep in AD patients [13-15, 26, 56, 57], although significant REM shortening was reported in only two studies [14, 57]. This controversy might be partially due to the small sample size used in these studies [13, 26] and/or to the intake of cholinesterase inhibitors at the time of sleep experiments [26]. This line of reasoning is supported by other studies that adequately controlled both variables [14, 57]. Quantitative EEG analyses has further revealed that spectral power composition of REM sleep differentiated AD patients from healthy elderly subjects [58-60], which points to REM sleep as a vulnerable cerebral state featuring AD. Two different hypotheses could account for these results. Firstly, neurons of the nucleus basalis of Meynert release the greatest level of acetylcholine to the neocortex during REM sleep [61] playing a major role in regulating cortical EEG activation characteristic of this cerebral state [62]. Converging evidence suggests that cholinergic neurons of nucleus basalis of Meynert are selectively vulnerable to neurodegeneration in AD patients [63] and MCI [23]. Therefore, it seems plausible that cholinergic dysfunctions originated in the nucleus basalis of Meynert was partially responsible for REM deficits observed in MCI, and extended to AD patients. Secondly, it is largely accepted that REM generation mechanisms involve the pontine cholinergic network [64]. AD *post mortem* studies have shown morphological changes in mesopontine cholinergic neurons of the pedunculopontine and laterodorsal tegmentum [65-67] providing strong support to REM deficits reported in AD patients. Our findings suggest that neural mechanisms involved in the generation and/or maintenance of REM sleep may be functionally impaired years before AD diagnosis,

MCI $\epsilon 4$ -carriers being more affected than non-carriers, which could be used in combination with biological and neuroimaging markers of early neurodegeneration to better determine boundaries between healthy aging and the prodromal stage of AD.

Previous studies have explored potential links between changes in sleep patterns and cognitive decline in AD patients. For instance, Moe and collaborators [16] reported significant correlations between cognitive and PSG measures (WASO, SWS, and REM) supporting the predictive value of this relationship in AD patients with different levels of disease severity. Sleep propensity has also shown to be inversely related to lower scores in global cognitive status, psychomotor, and memory function in mild to moderate AD patients [57]. In addition, increased REM sleep was found to correlate positively with enhanced cognitive function in patients with mild to moderate AD after donepezil administration [68]. Relationships between sleep patterns and cognitive decline in MCI patients had not been explored to date. Our study showed significant associations between immediate recall and REM sleep in MCI $\epsilon 4$ non-carriers, supporting the combined role of REM sleep together with memory performance as a potential early marker of AD. However, no significant relationship was found between delayed recall and REM sleep in MCI patients with or without the ApoE $\epsilon 4$ genotype. By using actigraph recordings, Yesavage and collaborators [31] also found significant relationships between deterioration of sleep parameters and lower MMSE scorings in AD $\epsilon 4$ non-carriers. However, it is unclear why impaired cognitive function and sleep disturbances are more frequently related to the lack of the $\epsilon 4$ allele in the ApoE gene. Previous evidence suggests that the most rapid cognitive decline occurs in AD patients with early onset $\epsilon 4$ non-carriers [69]. It may happen that our MCI sample included patients who will develop AD with both early and late onset as well as persons who will not progress to AD. This heterogeneity might indeed influence the impact of the ApoE $\epsilon 4$ genotype on cognitive decline and sleep disturbances. Further longitudinal studies are needed to better understand the combined role that ApoE $\epsilon 4$ and disturbed sleep patterns play in prodromal stages of AD.

Evidence suggests that prevalence of sleep disturbances in MCI is elevated [27,70, 71], although most of the studies have been based on interviews with the patients and/or the bed partner and on administration of different neuropsychiatric scales. To our knowledge, only one study has explored the presence of sleep disorders in MCI patients by using PSG recordings [12]. Authors concluded that sleep-related breathing disorders and sleep movement disorders are more prevalent in MCI patients. Unfortunately, our study cannot exclude the presence of sleep apnea and/or periodic limb movements on the basis of PSG recordings, which might partially confound our results. In our favour is the fact that all participants and their bed partners reported no related symptoms associated with these disorders during the neurologic exploration. Furthermore, subjective levels of daytime sleepiness were similar in both groups, individual ESS scorings were in all cases below the cut off for suspecting sleep disorders associated with excessive daytime sleepiness, and they were not significantly correlated with either cognitive or sleep/wake variables considered in our study. Never-

theless, further PSG studies including polygraphic respiratory and movement measures are needed to definitively confirm whether altered sleep patterns observed in MCI patients have a neurodegenerative basis or, in contrast, are due to sleep disorders exacerbated in healthy elders and MCI patients.

CONCLUSIONS

This study reveals altered sleep patterns in MCI patients, selectively aggravated for REM sleep in MCI $\epsilon 4$ carriers. These results in combination with biological and neuroimaging markers of early neurodegeneration might contribute to establish the boundaries between healthy and pathological aging in humans. Important questions for future research include how sleep impairments evolve along the continuum of healthy aging to severe AD, and how sleep markers could be of help for improving early diagnosis of AD and for managing sleep disorders during progression to AD. Further longitudinal studies are also required to validate the complex relationship among sleep, ApoE $\epsilon 4$ genotype, and early neurodegeneration.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by grants from the Spanish Ministry of Science and Innovation (SAF2008-03300; SAF2011-25463) and the Regional Ministry of Innovation, Science and Enterprise, Junta de Andalucía (P09-CTS-4604) given to JLC.

CONFLICT OF INTEREST

None declared.

REFERENCES

- [1] Gibson EM, Williams WP 3rd, Kriegsfield LJ. Aging in the circadian system: considerations for health, disease prevention and longevity. *Exp Gerontol* 44: 51-6 (2009).
- [2] Weitzman ED, Moline ML, Czeisler CA, Zimmerman JC. Chronobiology of aging: Temperature, sleep-wake rhythms and entrainment. *Neurobiol Aging* 3: 299-309 (1982).
- [3] Swaab DF, Fliers E. A sexually dimorphic nucleus in the human brain. *Science* 228: 1112-5 (1985).
- [4] Sherin JE, Shiromani PJ, McCarley RW, Saper CB. Activation of ventrolateral preoptic neurons during sleep. *Science* 271: 216-9 (1996).
- [5] Carskadon MA, Brown ED, Dement WC. Sleep fragmentation in the elderly: relationship to daytime sleep tendency. *Neurobiol Aging* 3: 321-7 (1982).
- [6] Feinberg I, Koresko RL, Heller N. EEG sleep patterns as a function of normal and pathological aging in man. *Psychiatry Res* 5: 107-44 (1967).
- [7] Cajochen C, Münch M, Knoblauch V, Blatter K, Wirz-Justice A. Age-related changes in the circadian and homeostatic regulation of human sleep. *Chronobiol Int* 23: 461-74 (2006).
- [8] Prinz PN, Vitiello MV, Raskind MA, Thorpy MJ. Geriatrics: sleep disorders and aging. *N Engl J Med* 323: 520-6 (1990).
- [9] Tolosa E, Iranzo A, Munoz E, Compta Y, Santamaría J, Ratti L, *et al.* Cerebrospinal hypocretin, daytime sleepiness and sleep architecture in Parkinson's disease dementia. *Brain* 132: 3308-17 (2009).
- [10] Rongve A, Boeve BF, Aarsland DJ. Frequency and correlates of caregiver-reported sleep disturbances in a sample of persons with early dementia. *Am Geriatr Soc* 58: 480-6 (2010).
- [11] Anderson KN, Hatfield C, Kipps C, Hastings M, Hodges JR. Disrupted sleep and circadian patterns in frontotemporal dementia. *Eur J Neurol* 16: 317-23 (2009).
- [12] Bombois S, Derambure P, Pasquier F, Monaca C. Sleep disorders in aging and dementia. *J Nutr Health Aging* 14: 212-7 (2010).

- [13] Loewenstein RJ, Weingartner H, Gillin JC, Kaye W, Ebert M, Mendelson WB. Disturbances of sleep and cognitive functioning in patients with dementia. *Neurobiol Aging* 3: 371-7 (1982).
- [14] Prinz PN, Vitaliano PP, Vitiello MV, Bokan J, Raskind M, Peskind E, *et al.* Sleep, EEG and mental function changes in senile dementia of the Alzheimer's type. *Neurobiol Aging* 3: 361-70 (1982).
- [15] Vitiello MV, Prinz PN, Williams DE, Frommlet MS, Ries RK. Sleep disturbances in patients with mild-stage Alzheimer's disease. *J Gerontol* 45: 131-8 (1990).
- [16] Moe KE, Vitiello MV, Larsen LH, Prinz PN. Sleep/wake patterns in Alzheimer's disease: relationships with cognition and function. *J Sleep Res* 4: 15-20 (1995).
- [17] Vecchierini MF. Sleep disturbances in Alzheimer's disease and other dementias. *Psychol Neuropsychiatr Vieil* 8: 15-23 (2010).
- [18] Chertkow H. Mild cognitive impairment. *Curr Opin Neurol* 15: 401-7 (2002).
- [19] Price JL, Morris JC. Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 45: 358-68 (1999).
- [20] Guillozet AL, Weintraub S, Mash DC, Mesulam MM. Neurofibrillary tangles, amyloid, and memory in aging and mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 60: 729-36 (2003).
- [21] Hampel H, Teipel SJ, Fuchsberger T, Andreason N, Wiltfang J, Otto M, *et al.* Value of CSF beta-amyloid1-42 and tau as predictors of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Mol Psychiatry* 9: 705-10 (2004).
- [22] Jack CR, Jr., Lowe VJ, Senjem ML, Weigand SD, Kemp BJ, Shiung MM, *et al.* 11C PiB and structural MRI provide complementary information in imaging of Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Brain* 131: 665-80 (2008).
- [23] Grothe M, Zaborszky L, Atienza M, Gil-Neciga E, Rodriguez-Romero R, Teipel SJ, *et al.* Reduction of basal forebrain cholinergic system parallels cognitive impairment in patients at high risk of developing Alzheimer's disease. *Cereb Cortex* 20: 1685-95 (2010).
- [24] Rossini PM, Del Percio C, Pasqualetti P, Casserta E, Binetti G, Dal Forno G, *et al.* Conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease is predicted by sources and coherence of brain electroencephalography rhythms. *Neuroscience* 143: 793-803 (2006).
- [25] Cantero JL, Atienza M, Gomez-Herrero G, Cruz-Vadell A, Gil-Neciga E, Rodriguez-Romero R, *et al.* Functional integrity of thalamocortical circuits differentiates normal aging from mild cognitive impairment. *Hum Brain Mapp* 30: 3944-57 (2009).
- [26] Yu JM, Tseng JJ, Yuan RY, Sheu JJ, Liu HC, Hu CJ. Low sleep efficiency in patients with cognitive impairment. *Acta Neurol Taiwan* 18: 91-7 (2009).
- [27] Beaulieu-Bonneau S, Hudon C. Sleep disturbances in older adults with mild cognitive impairment. *Int Psychogeriatr* 21: 654-66 (2009).
- [28] Artero S, Ancelin ML, Portet F, Dupuy A, Berr C, Dartigues JF, *et al.* Risk profiles for mild cognitive impairment and progression to dementia are gender specific. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79: 979-84 (2008).
- [29] Boyle PA, Buchman AS, Wilson RS, Kelly JF, Bennett DA. The APOE epsilon4 allele is associated with incident mild cognitive impairment among community-dwelling older persons. *Neuroepidemiology* 34: 43-9 (2010).
- [30] Liu RY, Zhou JN, van Heerikhuizen J, Hofman MA, Swaab DF. Decreased melatonin levels in postmortem cerebrospinal fluid in relation to aging, Alzheimer's disease, and apolipoprotein E-epsilon4 genotype. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 323-7 (1999).
- [31] Yesavage JA, Friedman L, Kraemer H, Tinklenberg JR, Salehi A, Noda A, *et al.* Sleep/wake disruption in Alzheimer's disease: APOE status and longitudinal course. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 17: 20-4 (2004).
- [32] Craig D, Hart DJ, Passmore AP. Genetically increased risk of sleep disruption in Alzheimer's disease. *Sleep* 29: 1003-7 (2006).
- [33] Petersen PR, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment. Clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 56: 303-8 (1999).
- [34] Böhm P, Peña-Casanova J, Aguilar M, Hernandez G, Sol JM, Blesa R, NORMACODEN Group. Clinical validity and utility of the interview for deterioration of daily living in dementia for Spanish-speaking communities. *Int Psychogeriatr* 10: 261-270 (1998).
- [35] Yesavage JA, Brink TL, Rose TL, Lum O. Development and validation of a geriatric depression scale: a preliminary report. *J Psychiatr Res* 17: 37-49 (1983).
- [36] Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *Am J Roentgenol* 149: 351-6 (1987).
- [37] Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 14 (6): 540-545 (1991).
- [38] Wenham PR, Price WH, Blandell G. Apolipoprotein E genotyping by one stage PCR. *Lancet* 337: 1158-1159 (1991).
- [39] Rechtschaffen A, Kales A, Eds. A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Los Angeles, California: UCLA Brain Information Service/Brain Research Institute (1968).
- [40] American Sleep Disorder Association. EEG arousals: scoring rules and examples. *Sleep* 15: 173-84 (1992).
- [41] Herukka SK, Helisalmi S, Hallikainen M, Tervo S, Soininen H, Pirttilä T. CSF Abeta42, Tau and phosphorylated Tau, APOE epsilon4 allele and MCI type in progressive MCI. *Neurobiol Aging* 28: 507-514 (2007).
- [42] Redline S, Kirchner HL, Quan SF, Gottlieb DJ, Kapur V, Newman A. The effects of age, sex, ethnicity, and sleep-disordered breathing on sleep architecture. *Arch Intern Med* 164: 406-18 (2004).
- [43] Unruh ML, Redline S, An MW, Buysse DJ, Nieto FJ, Yeh JL, *et al.* Subjective and objective sleep quality and aging in the sleep heart health study. *J Am Geriatr Soc* 56: 1218-27 (2008).
- [44] Kang JE, Lim MM, Bateman RJ, Lee JJ, Smyth LP, Cirrito JR, *et al.* Amyloid-beta dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. *Science* 326: 1005-7 (2009).
- [45] Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, De Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, *et al.* Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci* 18: 9996-10015 (1998).
- [46] Naidoo N, Ferber M, Master M, Zhu Y, Pack AI. Aging impairs the unfolded protein response to sleep deprivation and leads to proapoptotic signaling. *J Neurosci* 28: 6539-6548 (2008).
- [47] Rao RV, Bredesen DE. Misfolded proteins, endoplasmic reticulum stress and neurodegeneration. *Curr Opin Cell Biol* 16: 653-62 (2004).
- [48] Selkoe DJ. Folding proteins in fatal ways. *Nature* 426: 900-4 (2003).
- [49] Lindholm D, Wootz H, Korhonen L. ER stress and neurodegenerative diseases. *Cell Death Differ* 13: 385-392 (2006).
- [50] Katayama T, Imaizumi K, Sato N, Miyoshi K, Kudo T, Hitomi J, *et al.* Presenilin-1 mutations downregulate the signalling pathway of the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol* 1: 479-485 (1999).
- [51] Naidoo N. Cellular stress/the unfolded protein response: relevance to sleep and sleep disorders. *Sleep Med Rev* 13: 195-204 (2009).
- [52] Buijs RM, Kalsbeek A. Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. *Nat Rev Neurosci* 2: 521-6 (2001).
- [53] Deurveilher S, Burns J, Semba K. Indirect projections from the suprachiasmatic nucleus to the ventrolateral preoptic nucleus: a dual tract-tracing study in rat. *Eur J Neurosci* 16: 1195-213 (2002).
- [54] Chou TC, Bjorkum AA, Gaus SE, Lu J, Scammell TE, Saper CB. Afferents to the ventrolateral preoptic nucleus. *J Neurosci* 22: 977-90 (2001).
- [55] Wu YH, Feenstra MG, Zhou JN, Liu RY, Torano JS, Van Kan, JM, *et al.* Molecular changes underlying reduced pineal melatonin levels in Alzheimer disease: alterations in preclinical and clinical stages. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 5898-906 (2003).
- [56] Bliwise DL, Tinklenberg J, Yesavage JA, Davies H, Pursley AM, Petta DE, *et al.* REM latency in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 25: 320-8 (1989).
- [57] Bonanni E, Maestri M, Tognoni G, Fabbrini M, Nucciarone B, Manca ML, *et al.* Daytime sleepiness in mild and moderate Alzheimer's disease and its relationship with cognitive impairment. *J Sleep Res* 14: 311-7 (2005).
- [58] Petit D, Montplaisir J, Lorrain D, Gauthier S. Spectral analysis of the rapid eye movement sleep electroencephalogram in right and left temporal regions: a biological marker of Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 32: 172-6 (1992).
- [59] Prinz PN, Larsen LH, Moe KE, Vitiello MV. EEG markers of early Alzheimer's disease in computer selected tonic REM sleep. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 83: 36-43 (1992).
- [60] Petit D, Lorrain D, Gauthier S, Montplaisir J. Regional spectral analysis of the REM sleep EEG in mild to moderate Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 14: 141-5 (1993).

Sleep in Elders with MCI

- [61] Vazquez J, Baghdoyan HA. Basal forebrain acetylcholine release during REM sleep is significantly greater than during waking. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280: R598-601 (2001).
- [62] Berntson GG, Shafi R, Sarter M. Specific contributions of the basal forebrain corticopetal cholinergic system to electroencephalographic activity and sleep/waking behaviour. *Eur J Neurosci* 16: 2453-61 (2002).
- [63] Whitehouse PJ, Price DL, Clark AW, Coyle JT, DeLong MR. Alzheimer disease: Evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann Neurol* 10: 122-6 (1981).
- [64] Vanni-Mercier G, Sakai K, Lin JS, Jouviet M. Mapping of cholinceptive brainstem structures responsible for the generation of paradoxical sleep in the cat. *Arch Ital Biol* 127: 133-64 (1989).
- [65] Terry RD, Katzman R. Senile dementia of the Alzheimer type. *Ann Neurol* 14: 497-506 (1983).
- [66] Mufson EJ, Mash DC, Hersch LB. Neurofibrillary tangles in cholinergic pedunculopontine neurons in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 24: 623-9 (1988).

Current Alzheimer Research, 2012, Vol. 9, No. 3 297

- [67] Giess R, Schlote W. Localisation and association of pathomorphological changes at the brainstem in Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev* 84: 209-26 (1995).
- [68] Mizuno S, Kameda A, Inagaki T, Horiguchi J. Effects of donepezil on Alzheimer's disease: the relationship between cognitive function and rapid eye movement sleep. *Psychiatry Clin Neurosci* 58: 660-5 (2004).
- [69] van der Vlies AE, Koedam EL, Pijnenburg YA, Twisk JW, Scheltens P, van der Flier WM. Most rapid cognitive decline in APOE epsilon4 negative Alzheimer's disease with early onset. *Psychol Med* 39: 1907-1911 (2009).
- [70] Geda YE, Smith GE, Knopman DS, Boeve BF, Tangalos EG, Ivnik RJ, *et al.* De novo genesis of neuropsychiatric symptoms in mild cognitive impairment (MCI). *Int Psychogeriatr* 16: 51-60 (2004).
- [71] Lee KS, Cho HS, Hong CH, Kim DG, Oh BH. Differences in neuropsychiatric symptoms according to mild cognitive impairment subtypes in the community. *Dement Geriatr Cogn Disord* 26: 212-7 (2008).

Received: March 13, 2011 Revised: November 10, 2011 Accepted: November 13, 2011

PSG AND SUBJECTIVE SLEEP MARKERS OF MILD COGNITIVE IMPAIRMENT

<http://dx.doi.org/10.5665/sleep.2956>

Polysomnographic and Subjective Sleep Markers of Mild Cognitive Impairment

Eva Hita-Yañez, MS; Mercedes Atienza, PhD; Jose L. Cantero, PhD

Laboratory of Functional Neuroscience, Spanish Network of Excellence for Research on Neurodegenerative Diseases (CIBERNED), University Pablo de Olavide, Seville, Spain

Study Objectives: Growing evidence suggests that sleep disturbances precede by years the clinical onset of Alzheimer disease (AD). The goal of the current study is to determine whether changes in polysomnographic (PSG) sleep patterns accompany subjective sleep complaints in patients with mild cognitive impairment (MCI). We further examine whether meaningful changes in objective sleep physiology are predicted by self-reported sleep measures in MCI patients, and whether incipient neurodegeneration contributes to exacerbate sleep misperception.

Design, Setting, and Participants: Overnight PSG recordings and self-reported sleep measures were obtained from 25 healthy elderly (HE) subjects and 25 patients with MCI at the sleep laboratory.

Results: Both PSG and self-reported sleep measures confirmed that sleep is altered in patients with MCI. Whereas subjective sleep responses predicted fragmentation of slow wave sleep (SWS) in HE individuals, this relationship was not evident in MCI patients. Furthermore, patients with MCI showed significant discrepancies in the estimation of sleep onset latency when compared with HE subjects.

Conclusions: Sleep is significantly impaired in patients with mild cognitive impairment at both the objective and subjective level, which may be used as a surrogate marker of preclinical Alzheimer disease. Taken together, these findings aid in the development of novel therapeutic strategies devoted to improve sleep in the elderly population at risk of developing Alzheimer disease.

Keywords: Aging, Alzheimer disease, ApoE, mild cognitive impairment, polysomnography, self-reports, sleep, sleep misperception

Citation: Hita-Yañez E; Atienza M; Cantero JL. Polysomnographic and subjective sleep markers of mild cognitive impairment. *SLEEP* 2013;36(9):1327-1334.

INTRODUCTION

A large body of evidence suggests that sleep disturbances are common in the elderly.^{1,2} These age-related sleep changes have been attributed to damage of neuronal circuits involved in the circadian and homeostatic regulation of sleep,³ resulting in reduced sleep duration, problems initiating and maintaining sleep, and decreased slow wave sleep (SWS) and rapid eye movement (REM) sleep.⁴ Poor sleep in older adults has also been frequently associated with chronic diseases and mental health,^{5,6} and correlate with age-related cognitive decline.^{7,8} However, it is unknown to date whether sleep problems may themselves trigger or exacerbate chronic diseases in older adults.

Aging is the major risk factor for the development of AD,⁹ a particularly debilitating condition that appears as the most common cause of long-term institutionalization in persons older than 65 y, with annual costs ranging from \$21 billion (US healthcare system) to €189 billion (European Union).^{10,11} Sleep disorders have a significant effect on patients with AD and their caregivers, being one of the most troubling symptoms during the progression of disease.^{12,13} Recent polysomnographic (PSG) evidence shows that disturbed sleep patterns emerge years before clinical diagnosis, during the prodromal stage known as mild cognitive impairment (MCI).¹⁴ More specifically, patients with MCI exhibited smaller amounts of

REM sleep and increased SWS fragmentations than HE individuals.¹⁴ The reduction of REM sleep was found to be more remarkable in those patients with MCI carrying the apolipoprotein E (ApoE) ε4 allele,¹⁴ which is considered the major genetic risk factor for AD.¹⁵

Previous longitudinal and cross-sectional studies carried out with either PSG recordings¹⁶ or subjective sleep reports¹⁷ concurred that cognitive aging is significantly related to sleep integrity. However, sleep disturbances in preclinical stages of AD remain underrecognized by many healthcare professionals. One of the reasons might be the common belief that sleep problems are normal signs of aging regardless of the patient's predementia condition. An abbreviated sleep history containing relevant sleep questions might assist in discriminating between memory decline caused by normal aging or by AD pathophysiology. This could lead to targeted educational and effective clinical programs to improving sleep quality of patients with MCI, and to enhancing the quality of life of this population at risk of developing AD. Furthermore, determining subjective sleep predictors of physiological sleep in patients with MCI would lead to better cost-effectiveness strategies for the use of PSG techniques in healthcare systems devoted to elderly people.

In the current study, we first assessed if subjective sleep differs between HE subjects and patients with MCI. We next studied whether meaningful group differences in sleep architecture between HE individuals and MCI patients¹⁴ could be predicted by responses to five questions relevant to the sleep of patients with MCI relevant to the sleep of patients with MCI/AD, and whether the ApoE ε4 genotype contributes to enhancing this prediction. Finally, we evaluated whether sleep misperception gains relevance in prodromal stages of AD or if it accompanies cognitive aging regardless of incipient neurodegeneration.

A commentary on this article appears in this issue on page 1275.

Submitted for publication November, 2012

Submitted in final revised form January, 2013

Accepted for publication January, 2013

Jose L. Cantero, PhD, Laboratory of Functional Neuroscience, University Pablo de Olavide, Carretera de Utrera Km 1, 41013 – Seville, Spain; Tel: +34 954 977433; Fax: +34 954 349151; E-mail: jlcanlor@upo.es

SLEEP, Vol. 36, No. 9, 2013

1327

PSG and subjective sleep in MCI—Hita-Yañez et al

Table 1—Demographic characteristics and cognitive profile

	HE (n = 25)	MCI (n = 25)	P <	MCI $\epsilon 4^-$ (n = 14)	MCI $\epsilon 4^+$ (n = 11)	P <
Age, years	67.1 \pm 5.3	70.5 \pm 6.8	0.06	67.4 \pm 6.9	74.4 \pm 4.5	0.01
Sex (F/M)	13/12	7/18	0.08	3/11	4/7	0.4
Education level	8.5 \pm 2.6	9.5 \pm 5.3	0.4	8.0 \pm 5.1	11.4 \pm 5.1	0.1
CDR (sum of boxes)	0	0.5	N/A	0.5	0.5	N/A
MMSE	28.1 \pm 1.3	26.7 \pm 2.4	0.02	27.3 \pm 2.4	26.0 \pm 2.5	0.2
Immediate recall	13.9 \pm 2.9	9.0 \pm 2.9	10 ⁻⁶	10.3 \pm 2.9	7.4 \pm 1.9	0.008
Delayed recall	13.0 \pm 2.9	6.1 \pm 3.9	10 ⁻⁸	8.1 \pm 3.6	3.6 \pm 2.6	0.002
Forgetting rate	0.8 \pm 1.5	2.8 \pm 3	0.006	2.2 \pm 3.4	3.7 \pm 2.3	0.2

The forgetting rate was obtained by subtracting scores of immediate memory from delayed memory. Results expressed as mean \pm standard deviation. CDR = 0 no dementia, CDR = 0.5 questionable or very mild dementia. MMSE (Mini Mental State Examination) scores ranged from 0 to 30. N/A (not applicable). $\epsilon 4^-$, ApoE $\epsilon 4$ non-carriers; $\epsilon 4^+$, ApoE $\epsilon 4$ carriers; CDR, Clinical Dementia Rating; F/M, female/male; HE, healthy elderly; MCI, mild cognitive impairment.

METHODS

Patients

Twenty-five patients with MCI (7 females, mean age: 70.5 \pm 6.8 y) and 25 HE subjects (13 females, mean age: 67.1 \pm 5.3 y) were enrolled in the study, after they signed an informed consent. Experimental procedures were previously approved by the Ethical Committee for Human Research at the University Pablo de Olavide. Demographic and cognitive profiles of the participant groups are shown in Table 1.

Both HE subjects and patients with MCI underwent a neurological examination to exclude potential neurological diseases. Cerebral magnetic resonance imaging (MRI) was also performed on all candidates to rule out lesions such as territorial cerebral infarction, brain tumor, hippocampal sclerosis, and/or vascular malformations. Those candidates who showed periventricular and/or deep white matter damage, derived from scorings ≥ 2 on the Fazekas ischemic scale,¹⁸ were not included in the study. Other exclusion criteria were a history of neurological conditions, psychiatric disorders, and/or major medical illness (chronic renal, hepatic, pulmonary, or endocrine), the use of medication affecting the sleep-wake cycle (benzodiazepines, tricyclic and/or serotonin reuptake inhibitors), the presence of depressive symptoms (assessed with the abbreviated version of the Geriatric Depression Scale, using 5 as a cutoff score), and/or having complaints of sleep disordered breathing, movement disorders during sleep or unusual sleep schedules (i.e., shift work), which was corroborated by bed partners and/or caregivers. Patients with MCI were not taking cholinesterase inhibitors at the time of recruiting.

The diagnosis of MCI was based on consensus criteria:¹⁹ (1) subjective memory complaints corroborated by the informant, (2) objective memory loss substantiated by neuropsychological tests (scorings 1.5 standard deviations below the age-appropriate mean; immediate and delayed recall were assessed by the Spanish version of the Logical Memory subtest contained in the Wechsler Memory Scale-Third Edition), (3) global score of 0.5 (questionable dementia) in the clinical dementia rating (CDR), (4) normal independence function, and (5) not meeting the Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV) criteria for dementia. Global cognitive status was assessed with the Mini Mental State Examination (MMSE). Inclusion criteria for HE subjects were absence

of objective memory deterioration as revealed by the same neuropsychological tests used with MCI patients, CDR global score of 0 (no dementia), and normal independent function.

ApoE Genotyping

Genomic DNA was isolated from 3 mL human whole blood using a standard salting-out protocol.²⁰ ApoE polymorphisms were determined with polymerase chain reaction (Step-One Plus, Applied Biosystems, USA) using predesigned TaqMan single nucleotide polymorphisms genotyping assays (Applied Biosystems, USA).

PSG Recordings

The PSG protocol included simultaneous recordings of electroencephalography (EEG), vertical and horizontal electrooculography, and electromyography of submental muscles. Electrophysiological recordings were performed with gold cup, 10 mm- diameter electrodes (Grass, USA) filled with electrolytic cream, and attached with surgical tape (face placements) and collodion (scalp placements). Overnight PSG recordings were performed in a sound-attenuated bedroom with infrared video-controlled supervision. Respiratory measures were not included in the protocol because none of the participants reported complaints of sleep disordered breathing, corroborated by their bed partners. Furthermore, scores of the Epworth Sleepiness Scale (ESS) were below the cutoff for suspected sleep disorders associated with excessive daytime sleepiness.²¹

Electrophysiological recordings were amplified (BrainAmp MR, Brain Products, Germany), filtered (0.1-100 Hz bandpass), digitized (250 Hz, 16-bit resolution), and stored in digital format for off-line analysis. A trained technician, blind to the study purpose, conducted scoring of sleep stages following standard criteria.²² Criteria for scoring EEG arousals were taken from the American Sleep Disorders Association report,²³ and the level of sleep fragmentation was determined by the arousal index in each sleep stage. This index resulted from dividing the number of arousals appearing in a sleep stage by the time (in hours) spent in that sleep stage. For the purpose of the current study, only those PSG parameters that showed significant group differences between HE subjects and patients with MCI (i.e., REM percentage and density of SWS arousals¹⁴) were correlated with self-reported sleep data.

Subjective Sleep Data

Subjective sleep measures were collected the same day from the PSG recording through direct interviewing. All participants were asked to answer five questions focused on sleep parameters, sleep symptoms, and sleep quality over the past few months (Table 2). These five questions were included in the current study on the basis of sleep disturbances previously reported in patients with AD or MCI: longer latencies to sleep onset²⁴ (item 1), shortened sleep duration²⁵ (item 2), increased sleep arousals and/or wake ups after sleep onset^{14,26} (items 3 and 4), and poorer sleep quality¹² (item 5).

Statistical Analysis

Statistical analyses were conducted using SPSS v.15 (SPSS Inc., Chicago, IL). A logarithmic transformation was applied to non-normally distributed dependent variables to approach normal distribution. Group differences in sex (HE versus MCI; MCI $\epsilon 4$ noncarriers versus MCI $\epsilon 4$ carriers) were evaluated by applying the chi-square test, whereas group differences in the remaining demographic and cognitive variables were assessed with the Student *t*-test.

Group differences in PSG and subjective sleep measures were separately assessed by analyses of covariance (ANCOVA). Next, multivariate regression (MVAR) analyses were applied to examine if self-reported sleep predicted group differences in PSG parameters. If statistical significance was reached in at least one group, we then assessed group differences between regression slopes. Both ANCOVAs and MVAR analyses (within and between groups) included age and sex as covariates.

Given the relationship between memory consolidation and sleep continuity,²⁷ we further evaluated whether any sleep parameter, derived from either overnight PSG recordings or self-reports, predicted memory performance (immediate, delayed memory, and forgetting rate) in each group separately (HE, MCI, MCI $\epsilon 4$ noncarriers, MCI $\epsilon 4$ carriers). If significance was reached in at least one group, we then assessed group differences between regression slopes. MVAR analyses (within and between groups) included age and sex as covariates.

We finally evaluated whether sleep misperception gains relevance during prodromal AD stages. To achieve this goal, two mixed ANCOVAs were performed with either sleep onset latency (SOL) or sleep duration (subjective versus objective) as the within-subject factor, group (either HE versus MCI or MCI

$\epsilon 4$ noncarriers versus MCI $\epsilon 4$ carriers) as the between-subject factor, and age and sex as covariates.

RESULTS

Demographic and Cognitive Profile

HE subjects and patients with MCI showed similar demographic profiles (Table 1). Age was comparable in the two groups but differed between MCI $\epsilon 4$ carriers and MCI $\epsilon 4$ noncarriers ($P < 0.01$). Although sex did not differ between HE and MCI, this variable showed a trend toward significance ($P < 0.08$). Eleven patients with MCI exhibited the genotype ApoE $\epsilon 4$ and the remaining 14 patients were $\epsilon 4$ noncarriers. Overall, the prevalence of the allele $\epsilon 4$ in the ApoE was 3.6-fold greater in MCI than in HE, being present in 44% of MCI patients in contrast with 12% of HE subjects. The presence of the ApoE $\epsilon 4$ allele was not used as selection criterion during the recruiting process, its distribution in our MCI sample resulted entirely from chance.

Patients with MCI showed impairments in immediate ($P < 10^{-6}$) and delayed recall ($P < 10^{-8}$), as well as in the forgetting rate (immediate minus delayed recall; $P < 0.006$) when compared with HE subjects (Table 1). In addition, memory, but not the forgetting rate, was significantly more affected in MCI $\epsilon 4$ carriers than in noncarriers (immediate, $P < 0.008$; delayed, $P < 0.002$). The same pattern of results (HE > MCI- $\epsilon 4^-$ > MCI- $\epsilon 4^+$) was corroborated when memory performance was compared among the three groups (Pillai trace, $F_{4,94} = 10.6$, $P < 10^{-6}$; *post hoc* analyses, $P < 0.03$).

PSG Sleep

Group differences in PSG sleep variables were reported elsewhere.¹⁴ Here, statistical analyses were repeated introducing age and sex as covariates into the general linear model, although

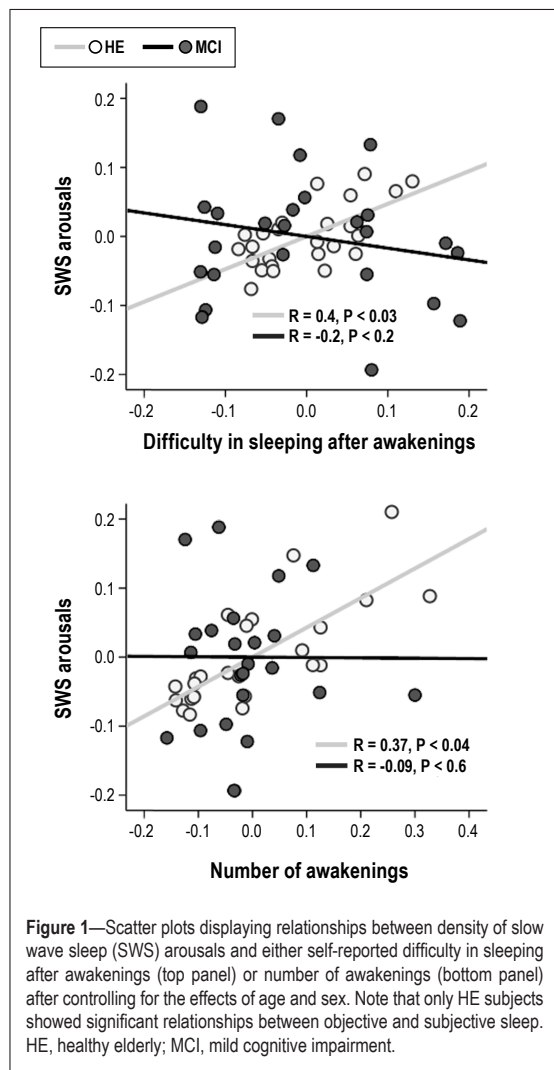
Table 2—Self-reported sleep questions

1. How long does it usually take you to fall asleep? _____ min
2. How long do you sleep at night? _____ h
3. How many times do you awaken per night? _____ times
4. Do you have difficulty in returning to sleep after nocturnal awakenings?
 Usually (three or more times a week)
 Sometimes (once or twice a week)
 Seldom (less than once a week)
 Never
5. Rate your sleep quality from 0-10 (0 being terrible, 10 being excellent).

Table 3—Self-reported sleep in HE subjects and patients with MCI

Sleep Self-Report	HE (n = 25)	MCI (n = 25)	P <	MCI $\epsilon 4^-$ (n = 14)	MCI $\epsilon 4^+$ (n = 11)	P <
1. Sleep latency (min)	19.2 \pm 17.1	34.3 \pm 28.13	0.05	29.5 \pm 22	40.5 \pm 33.7	0.7
2. Sleep time (h)	6.4 \pm 0.74	5.94 \pm 1.25	0.01	5.78 \pm 1.19	6.15 \pm 1.3	0.7
3. Nocturnal awakenings	1.22 \pm 1.3	2.36 \pm 1.53	0.01	2.35 \pm 1.75	2.36 \pm 1.2	0.6
4. Sleep after awakenings	1.6 \pm 0.63	2.48 \pm 1.17	0.0004	2.35 \pm 1.1	2.63 \pm 1.22	0.7
5. Sleep quality (0-10)	7.56 \pm 1.16	6.48 \pm 1.7	0.003	6.78 \pm 1.77	6.1 \pm 1.5	0.1
ESS	5 \pm 2.4	5.4 \pm 3.5	0.6	5.1 \pm 2.6	5.8 \pm 4.6	0.5

Results are expressed as mean \pm standard deviation. Epworth Sleepiness Scale (ESS) scores ranged from 0 to 24, 10 being the cutoff to suspect pathological diurnal sleepiness. $\epsilon 4^-$, ApoE $\epsilon 4$ non-carriers; $\epsilon 4^+$, ApoE $\epsilon 4$ carriers; HE, healthy elderly; MCI, mild cognitive impairment.



results remained unchanged. Briefly, SWS was significantly disrupted in patients with MCI as revealed by the higher density of arousals occurring during this cerebral state (HE = 0.09 ± 0.11 ; MCI = 0.19 ± 0.10 ; $P < 0.01$). REM sleep was also significantly shortened in patients with MCI (HE = 14.7 ± 3.7 ; MCI = 10.1 ± 5.4 ; $P < 0.007$). This effect was especially evident in MCI $\epsilon 4$ carriers (7.4 ± 5.5 ; $P < 0.04$) when compared with MCI $\epsilon 4$ noncarriers (12.3 ± 4.3).

Self-Reported Sleep

Overall, self-perception of sleep was worse in patients with MCI than in HE individuals (Pillai trace, $F_{5,42} = 5.37$, $P < 0.001$). *Post hoc* analyses showed that MCI patients reported longer SOL ($F_{1,46} = 3.92$, $P < 0.05$), shorter sleep time ($F_{1,46} = 6.02$, $P < 0.01$), increased nocturnal awakenings ($F_{1,46} = 6.97$, $P < 0.01$), more difficulty in sleeping after nocturnal awakenings ($F_{1,46} = 14.34$, $P < 0.0004$), and poorer sleep quality ($F_{1,46} = 10.08$, $P < 0.003$).

SLEEP, Vol. 36, No. 9, 2013

No differences in subjective sleep were found when compared responses between MCI $\epsilon 4$ carriers and noncarriers. Table 3 summarizes averaged group responses to the sleep questions employed in this study. Subjective levels of daytime sleepiness did not differ between groups, as revealed by ESS scores (Table 3).

Relationships Between Sleep Physiology and Self-Reports of Sleep

We further investigated whether significant group differences in meaningful PSG sleep parameters (SWS arousals and REM percentage)¹⁴ correlated with responses to the five sleep items in HE subjects and patients with MCI, separately. The regression analysis yielded a positive relationship between SWS arousals and self-reported sleep in HE subjects ($F_{7,24} = 3.1$, $P < 0.02$, adjusted R squared = 0.38), but no significant associations between objective and subjective sleep were found in MCI patients. *Post hoc* analyses revealed that two sleep items mainly accounted for significant correlations between SWS arousals and self-estimation of sleep disturbances in HE subjects: “difficulty in sleeping after nocturnal awakenings” ($P < 0.03$, $r = 0.4$) and “number of nocturnal awakenings” ($P < 0.04$, $r = 0.37$). However, only correlations performed with “difficulty in sleeping after awakenings” significantly distinguished normal from pathological aging ($F_{5,49} = 4.32$, $P < 0.003$, adjusted R squared = 0.25; beta for the interaction term = 0.64, $P < 0.03$), although correlations with “number of nocturnal awakenings” also showed a trend toward significance ($P < 0.07$). Figure 1 illustrates between-group regression analyses for the abovementioned relationships. Neither responses to sleep questions nor the ApoE $\epsilon 4$ polymorphism predicted the amount of REM sleep in HE subjects and patients with MCI.

Relationships Between Sleep and Memory Performance

Regression analyses revealed no significant relationships between significant sleep parameters (derived from either PSG data or self-reports) and memory-forgetting indices in any group. Therefore, comparisons between regression slopes were not performed.

Sleep Misperception in Healthy Aging and MCI

Figure 2 illustrates group differences between PSG-objective and subjective estimation of the SOL and sleep duration. We found that only the SOL was significantly overestimated ($F_{1,46} = 9.3$, $P < 0.004$), showing a trend toward significance for the interaction effect ($F_{1,46} = 3.5$, $P < 0.07$). In agreement with this trend, *post hoc* analyses revealed that patients with MCI overestimated the SOL ($P < 10^{-4}$; self-reports = 34.3 ± 4.8 ; PSG = 14.7 ± 1.5) compared with HE subjects (self-reports = 19.2 ± 4.7 ; PSG = 11.3 ± 1.5). The presence of the $\epsilon 4$ allele in patients with MCI did not influence sleep perception.

DISCUSSION

The current study provides compelling evidence of objective and subjective sleep disturbances in patients with MCI, suggesting that sleep problems precede in years the clinical onset of AD, and therefore adding support to a positive feedback loop between impaired sleep and A β levels previously reported in animal models of AD.²⁸ Our results further indicated

1330

PSG and subjective sleep in MCI—Hita-Yañez et al

a poor correspondence between objective sleep physiology and subjective estimates of sleep in this preclinical population. In particular, patients with MCI were unable to establish associations between SWS fragmentation and self-reports related to sleep quality, and they also exhibited significant discrepancies in the estimation of SOL when compared with HE subjects.

Sleep Disturbances in MCI: From Objective Physiology to Self-Reported Measures

Evidence suggesting that aging-related cognitive decline could be exacerbated by a loss of sleep integrity^{7,8} has fed the hypothesis that sleep disturbances in older adults might anticipate AD,²⁹ which has been recently supported by studies using mouse models of β -amyloidosis.^{28,30} These studies showed that sleep disruptions appeared after plaque formation, and reversed after elimination of A β deposits.²⁸ Given that A β aggregation become evident years before the clinical onset of AD,^{31,32} examining sleep disturbances during preclinical stages of AD might have important implications for early diagnosis and disease progression.

The belief that MCI status is the preclinical stage of AD has received strong support from neuropathological,^{31,32} biochemical,³³ neuroimaging,^{34,35} and neurophysiological findings.³⁶ Although overnight PSG studies are rare in patients with MCI,^{14,26} previous research using subjective measures concur that sleep problems are more frequent in patients with MCI than in HE subjects.³⁷⁻³⁹ The current study corroborates these findings by using five sleep questions focused on aspects of sleep affected in AD and patients with MCI.^{12,14,24-26} Adding this short questionnaire into the routine medical history of elderly people with memory deficits might help to identify those at risk of developing AD in primary care practice.

To the best of our knowledge, this is the first study addressing the issue of sleep misperception in preclinical stages of AD. Our results showed that patients with MCI overestimate the SOL, although temporal skills are preserved in AD.⁴⁰ Two lines of research support that SOL misperception in MCI patients might result from memory deficits caused by early neurodegeneration. First, it is well established that perception of retrospective timing relies more strongly on memory than on attention, especially when time estimations are in the range of minutes.⁴¹ Second, this process requires from the integrity of the medial temporal lobe,⁴² which is devastated by neurofibrillary pathology and cell loss early in the course of AD.⁴³⁻⁴⁶ Accordingly, neuroimaging studies conducted in patients with MCI have consistently showed significant atrophies of medial temporal lobe able to predict conversion from MCI to AD,⁴⁷ as well as decreased volume of the perforant pathway that plays an important role in memory function.^{48,49}

The SOL is also overestimated in patients with suspected hypersomnolence.⁵⁰ One might speculate that excessive diurnal somnolence, caused by sleep related breathing and/or sleep movement disorders, underlies sleep onset misperception in our MCI population. Although we did not objectively exclude the presence of sleep apnea and/or periodic limb movements in our sample, subjective levels of daytime sleepiness did not differ between groups, and ESS scores were in all cases below the threshold for suspecting sleep disorders associated with excessive daytime sleepiness. Furthermore, neither study participants nor their bed partners reported

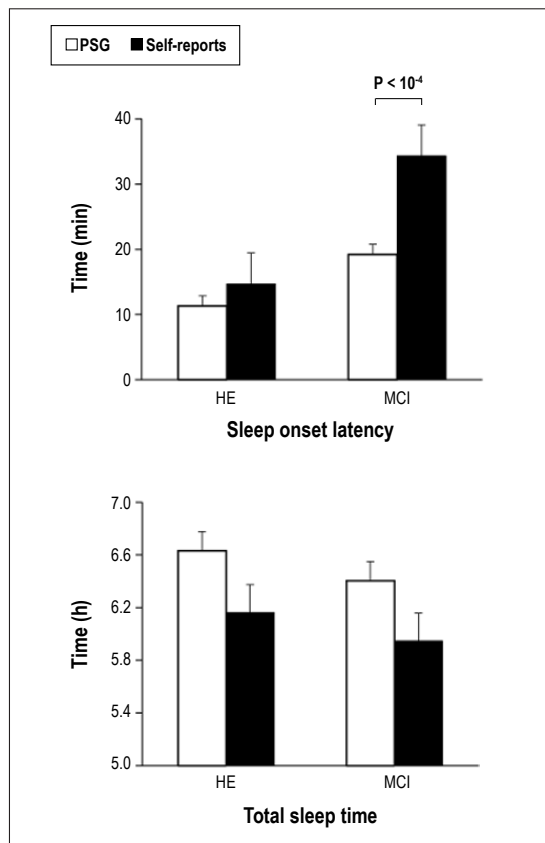


Figure 2—Sleep misperception in prodromal stages of Alzheimer disease. PSG and subjective estimation of sleep onset latency (top panel) and total sleep time (bottom panel) in HE subjects and MCI patients. HE, healthy elderly; MCI, mild cognitive impairment; PSG, polysomnography.

symptoms associated with these sleep disorders. We therefore believe that sleep onset misperception is intensified by memory deficits in patients with MCI, providing novel insight into the interaction between early neurodegeneration, and sleep perception in preclinical stages of AD.

Possession of one or two copies of the $\epsilon 4$ allele in the *ApoE* gene has been suggested as the major genetic risk factor for developing AD in patients with MCI.⁵¹ Whereas REM deficits in patients with MCI are aggravated by the presence of the ApoE $\epsilon 4$ genotype,¹⁴ this condition was neither associated with higher prevalence of self-reported sleep disturbances nor predicted significant relationships between objective and subjective sleep alterations. Recent studies have found that human ApoE4-targeted replacement mice, but not wild-type control mice, showed significant reduction of SWS and REM sleep during acute exposure to intermittent hypoxia and sleep fragmentation.⁵² Building on these findings, we suggest that physiological but not subjective sleep is more vulnerable to the presence of the $\epsilon 4$ allele in patients with MCI. However, further longitudinal studies are needed to establish whether MCI ApoE $\epsilon 4$ carriers showing altered PSG sleep patterns convert faster to AD than those only showing subjective sleep complaints.

This study has several potential sources of bias that should be noted. First, we compared PSG sleep data recorded in 1 night with subjective sleep quality over the past few months to establish relationships between objective and subjective sleep in HE subjects and patients with MCI. This approach implicitly assumes that PSG data obtained from one single night is representative of a typical night in the past few months. A more reliable approach would have been to correlate overnight PSG recordings with self-reports of sleep referring to that particular night. Second, PSG sleep studies were performed without previous adaptation of participants to the sleep laboratory. As a consequence, our results may be affected by the first-night effect (i.e., differences observed on the first PSG sleep recording in comparison with consecutive ones),^{53,54} which has previously been demonstrated to affect older patients more than younger ones.⁵⁵ This hypothesis is, however, less plausible because the effect of the first-night effects on sleep structure would be expected to be similar in both HE subjects and patients with MCI.

Basal Forebrain: Where AD Meets Sleep and Cognition

Different regions of basal forebrain (BF) are involved in nonrapid eye movement (NREM) sleep regulation, as revealed by lesion⁵⁶ and stimulation studies.⁵⁷ In addition, several studies have shown that NREM sleep is significantly reduced in patients with AD.^{13,58} Convergent evidence further suggested that BF cholinergic neurons are selectively vulnerable to AD neurodegeneration,^{59,60} adding support to the hypothesis that cholinergic dysfunctions are partially responsible for the cognitive deficits observed in patients with AD.⁶¹ We have recently extended this hypothesis to preclinical stages of AD, showing that patients with MCI exhibited significant volume reductions of the nucleus basalis of Meynert that in turn correlated with impaired cognition in this preclinical population.³⁴ Therefore, damage of BF nuclei together with altered SWS might exacerbate cognitive dysfunctions in patients with MCI.

Convergent evidence also supports relationships between impaired sleep and lesions of BF nuclei in patients with MCI. First, BF regions involved in SWS regulation are damaged in patients with MCI.^{34,56,57} Second, A β plaques appear years before the clinical onset of AD,^{31,32} likely triggering a positive feedback loop between A β concentrations and sleep-wake irregularities during preclinical AD stages.²⁸ In line with the second hypothesis, increased disruption of SWS might lead to impaired cognitive integrity due to higher A β concentrations, which in turn might contribute to sleep misperception observed in patients with MCI. Recent evidence has shown that sleep disturbances increase proinflammatory cytokine levels and they further induce microglia activation in the mouse hippocampus, leading to deficits in hippocampal-dependent learning and memory consolidation.⁶² Collectively, these findings suggest that SWS disruptions reported in patients with MCI could both activate the amyloid cascade and induce neuroinflammation in the hippocampus. Both complementary conditions pave the way to AD progression.

No significant associations were found between SWS fragmentation and memory performance/forgetting rate, neither in HE subjects nor in patients with MCI. However, this lack

of significance does not allow us to fully discard associations between sleep integrity and memory performance in prodromal stages of AD.²⁶ Future investigations should include memory indices more sensitive to AD neuropathology. For instance, patients with MCI have more difficulties in remembering relations among items or between an item and its context (associative memory) rather than individual items.⁶³ In support of this hypothesis, we recently found in patients with MCI significant correlations between gray matter volume of the entorhinal cortex and associative memory deficits, but not with immediate or delayed recall.⁶⁴ Therefore, indices of associative memory might be more appropriate to investigating potential relationships between memory performance and sleep integrity in MCI patients.

Only one study has previously evaluated potential relationships between objective and subjective measures of sleep in early to moderate stages of AD, although objective sleep parameters were obtained with actigraphic recordings.²⁴ Authors found significant discrepancies between objective and subjective sleep in patients with AD, but not in control subjects.²⁴ Our results confirm these findings and allow us to extend sleep misperception to years before the clinical onset of AD, which might result from complex interactions between sleep disruptions and high levels of A β .²⁸ Much more research is needed to fully understand relationships between sleep disturbances and A β levels during the continuum healthy aging to severe AD, and to establish whether improving sleep in preclinical stages of AD is a beneficial strategy in slowing the progression of this neurodegenerative condition.

CONCLUSIONS

Sleep complaints are commonly underdiagnosed in the geriatric population although they constitute a significant source of concern in patients with dementia. The current study confirms that sleep disturbances in patients with MCI can be determined on the basis of both overnight PSG recordings and self-reports. Our results further revealed that patients with MCI not only are unable to establish coherent relationships between objective and subjective sleep but they also have significant difficulties in correctly estimating the SOL, which might result from memory deficits intrinsic to this preclinical condition. Taken together, these results add support to reciprocal relationships between impaired sleep and A β levels,²⁸ suggesting that this positive feedback loop begins years before the clinical onset of AD. Results of the current study have also important implications for early diagnosis of AD, and might aid in the development of novel therapeutic strategies devoted to improve sleep in elderly patients with impaired cognition.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by research grants from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (SAF2011-25463, to Dr. Cantero), and from the Regional Ministry of Innovation, Science and Enterprise, Junta de Andalucía (P09-CTS-4604, to Dr. Cantero).

DISCLOSURE STATEMENT

This was not an industry supported study. The authors have indicated no financial conflicts of interest.

REFERENCES

- Neikrug AB, Ancoli-Israel S. Sleep disorders in the older adult - a mini-review. *Gerontology* 2010;56:181-9.
- Prinz PN, Vitiello MV, Raskind MA, Thorpy MJ. Geriatrics: sleep disorders and aging. *N Engl J Med* 1990;323:520-6.
- Hofman MA, Swaab DF. Alterations in circadian rhythmicity of the vasopressin-producing neurons of the human suprachiasmatic nucleus (SCN) with aging. *Brain Res* 1994;651:134-42.
- Espiritu JR. Aging-related sleep changes. *Clin Geriatr Med* 2008;24:1-14.
- Reid KJ, Martinovich Z, Finkel S, et al. Sleep: a marker of physical and mental health in the elderly. *Am J Geriatr Psychiatry* 2006;14:860-6.
- Foley D, Ancoli-Israel S, Britz P, Walsh J. Sleep disturbances and chronic disease in older adults: results of the 2003 National Sleep Foundation Sleep in America Survey. *J Psychosom Res* 2004;56:497-502.
- Jaussent I, Bouyer J, Ancelin ML, et al. Excessive sleepiness is predictive of cognitive decline in the elderly. *Sleep* 2012;35:1201-7.
- Potvin O, Lorrain D, Forget H, et al. Sleep quality and 1-year incident cognitive impairment in community-dwelling older adults. *Sleep* 2012;35:491-9.
- Hebert LE, Scherr PA, Beckett LA, et al. Age-specific incidence of Alzheimer's disease in a community population. *JAMA* 1995;273:1354-9.
- Luengo-Fernandez R, Leal J, Gray AM. Cost of dementia in the pre-enlargement countries of the European Union. *J Alzheimers Dis* 2011;27:187-96.
- Arrighi HM, McLaughlin T, Leibman C. Prevalence and impact of dementia-related functional limitations in the United States, 2001 to 2005. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2010;24:72-8.
- Vitiello MV, Prinz PN. Alzheimer's disease. Sleep and sleep/wake patterns. *Clin Geriatr Med* 1989;5:289-99.
- Loewenstein RJ, Weingartner H, Gillin JC, Kaye W, Ebert M, Mendelson WB. Disturbances of sleep and cognitive functioning in patients with dementia. *Neurobiol Aging* 1982;3:371-7.
- Hita-Yañez E, Atienza M, Gil-Neciga E, Cantero JL. Disturbed sleep patterns in elders with mild cognitive impairment: the role of memory decline and ApoE ϵ 4 genotype. *Curr Alzheimer Res* 2012;9:290-7.
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 1993;261:921-3.
- Spiegel R, Herzog A, Köberle S. Polygraphic sleep criteria as predictors of successful aging: an exploratory longitudinal study. *Biol Psychiatry* 1999;45:435-42.
- Jelicic M, Bosma H, Ponds RW, Van Boxtel MP, Houx PJ, Jolles J. Subjective sleep problems in later life as predictors of cognitive decline. Report from the Maastricht Ageing Study (MAAS). *Int J Geriatr Psychiatry* 2002;17:73-7.
- Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *Am J Roentgenol* 1987;149:351-6.
- Petersen PR, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment. Clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999;56:303-8.
- Miller S, Dykes D, Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
- Johns MW. A new method for measuring daytime sleepiness: the Epworth sleepiness scale. *Sleep* 1991;14:540-5.
- Rechtschaffen A, Kales A. A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Los Angeles, California: UCLA Brain Information Service/Brain Research Institute, 1968.
- American Sleep Disorder Association. EEG arousals: scoring rules and examples. *Sleep* 1992;15:173-84.
- Most EI, Aboudan S, Scheltens P, Van Someren EJ. Discrepancy between subjective and objective sleep disturbances in early- and moderate-stage Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry* 2012;20:460-7.
- Prinz PN, Peskind ER, Vitaliano PP, et al. Changes in the sleep and waking EEGs of nondemented and demented elderly subjects. *J Am Geriatr Soc* 1982;30:86-93.
- Westerberg CE, Mander BA, Florczak SM, et al. Concurrent impairments in sleep and memory in amnesic mild cognitive impairment. *J Int Neuropsychol Soc* 2012;18:490-500.
- Rolls A, Colas D, Adamantidis A, et al. Optogenetic disruption of sleep continuity impairs memory consolidation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108:13305-10.
- Roh JH, Huang Y, Bero AW, et al. Disruption of the sleep-wake cycle and diurnal fluctuation of β -amyloid in mice with Alzheimer's disease pathology. *Sci Transl Med* 2012;4:150ra122.
- Osorio RS, Pirraglia E, Agüera-Ortiz LF, et al. Greater risk of Alzheimer's disease in older adults with insomnia. *J Am Geriatr Soc* 2011;59:559-62.
- Kang JE, Lim MM, Bateman RJ, et al. Amyloid-beta dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. *Science* 2009;326:1005-7.
- Markesbery WR, Schmitt FA, Kryscio RJ, Davis DG, Smith CD, Wekstein DR. Neuropathologic substrate of mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2006;63:38-46.
- Guillozet AL, Weintraub S, Mash DC, Mesulam MM. Neurofibrillary tangles, amyloid, and memory in aging and mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2003;60:729-36.
- Hampel H, Teipel SJ, Fuchsberger T, et al. Value of CSF beta-amyloid1-42 and tau as predictors of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Mol Psychiatry* 2004;9:705-10.
- Grothe M, Zaborszky L, Atienza M, et al. Reduction of basal forebrain cholinergic system parallels cognitive impairment in patients at high risk of developing Alzheimer's disease. *Cereb Cortex* 2010;20:1685-95.
- Jack CR Jr, Lowe VJ, Senjem ML, et al. 11C PiB and structural MRI provide complementary information in imaging of Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Brain* 2008;131:665-80.
- Cantero JL, Atienza M, Gomez-Herrero G, et al. Functional integrity of thalamo-cortical circuits differentiates normal aging from mild cognitive impairment. *Hum Brain Mapp* 2009;30:3944-57.
- Beaulieu-Bonneau S, Hudon C. Sleep disturbances in older adults with mild cognitive impairment. *Int Psychogeriatr* 2009;21:654-66.
- Lee KS, Cho HS, Hong CH, Kim DG, Oh BH. Differences in neuropsychiatric symptoms according to mild cognitive impairment subtypes in the community. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2008;26:212-7.
- Geda YE, Smith GE, Knopman DS, et al. De novo genesis of neuropsychiatric symptoms in mild cognitive impairment (MCI). *Int Psychogeriatr* 2004;16:51-60.
- Levy B, Dreier T. Preservation of temporal skills in Alzheimer's disease. *Perc Mot Skills* 1997;85:83-96.
- Ornstein RE, ed. On the experience of time. Baltimore: Penguin Books, 1970.
- Noulhiane M, Pouthas V, Hasboun D, Baulac M, Samson S. Role of the medial temporal lobe in time estimation in the range of minutes. *Neuroreport* 2007;18:1035-8.
- Kordower JH, Chu Y, Stebbins GT, et al. Loss and atrophy of layer II entorhinal cortex neurons in elderly people with mild cognitive impairment. *Ann Neurol* 2001;49:202-13.
- Van Hoesen GW, Augustinack JC, Dierker J, Redman SJ, Thangavel R. The parahippocampal gyrus in Alzheimer's disease. Clinical and preclinical neuroanatomical correlates. *Ann N Y Acad Sci* 2000;911:254-74.
- Gomez-Isla T, Price JL, McKeel Jr DW, Morris JC, Growdon JH, Hyman BT. Profound loss of layer II entorhinal cortex neurons occurs in very mild Alzheimer's disease. *J Neurosci* 1996;16:4491-500.
- Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)* 1991;82:239-59.
- Korf ES, Wahlund LO, Visser PJ, Scheltens P. Medial temporal lobe atrophy on MRI predicts dementia in patients with mild cognitive impairment. *Neurology* 2004;63:94-100.
- Rogalski EJ, Murphy CM, deToledo-Morrell L, et al. Changes in parahippocampal white matter integrity in amnesic mild cognitive impairment: a diffusion tensor imaging study. *Behav Neurol* 2009;21:51-61.
- Stoub TR, deToledo-Morrell L, Stebbins GT, Leurgans S, Bennett DA, Shah RC. Hippocampal disconnection contributes to memory dysfunction in individuals at risk for Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:10041-5.
- Chervin RD, Guilleminault C. Overestimation of sleep latency by patients with suspected hypersomnolence. *Sleep* 1996;19:94-100.
- Artero S, Ancelin ML, Portet F, et al. Risk profiles for mild cognitive impairment and progression to dementia are gender specific. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008;79:979-84.
- Kaushal N, Ramesh V, Gozal D. Human apolipoprotein E4 targeted replacement in mice reveals increased susceptibility to sleep disruption and intermittent hypoxia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2012;303:R19-29.
- Browman CP, Cartwright RD. The first-night effect on sleep and dreams. *Biol Psychiatry* 1980;15:809-12.

54. Agnew HW, Webb WB, Williams RL. The first night effect: an EEG study of sleep. *Psychophysiology* 1966;2:263-6.
55. Webb WB, Campbell SS. The first night effect revisited with age as a variable. *Waking Sleeping* 1979;3:319-24.
56. McGinty DJ, Serman MB. Sleep suppression after basal forebrain lesions in the cat. *Science* 1968;160:1253-5.
57. Serman MB, Clemente CD. Forebrain inhibitory mechanisms: sleep patterns induced by basal forebrain stimulation in the behaving cat. *Exp Neurol* 1962;6:103-17.
58. Vitiello MV, Prinz PN, Williams DE, Frommlet MS, Ries RK. Sleep disturbances in patients with mild-stage Alzheimer's disease. *J Gerontol* 1990;45:131-8.
59. Arendt T, Bigl V, Tennstedt A, Arendt A. Neuronal loss in different parts of the nucleus basalis is related to neuritic plaque formation in cortical target areas in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 1985;14:1-14.
60. Whitehouse PJ, Price DL, Clark AW, Coyle JT, DeLong MR. Alzheimer disease: Evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann Neurol* 1981;10:122-6.
61. Coyle JT, Price DL, DeLong MR. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* 1983;219:1184-90.
62. Zhu B, Dong Y, Xu Z, et al. Sleep disturbance induces neuroinflammation and impairment of learning and memory. *Neurobiol Dis* 2012;48:348-55.
63. Troyer AK, Murphy KJ, Anderson ND, Hayman-Abello BA, Craik FI, Moscovitch M. Item and associative memory in amnesic mild cognitive impairment: performance on standardized memory tests. *Neuropsychology* 2008;22:10-6.
64. Atienza M, Atalaia-Silva KC, Gonzalez-Escamilla G, Gil-Neciga E, Suarez-Gonzalez A, Cantero JL. Associative memory deficits in mild cognitive impairment: the role of hippocampal formation. *Neuroimage* 2011;57:1331-42.

